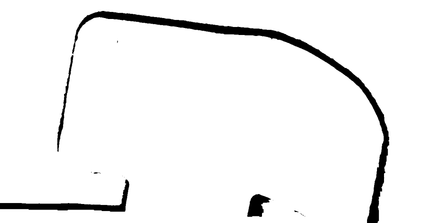
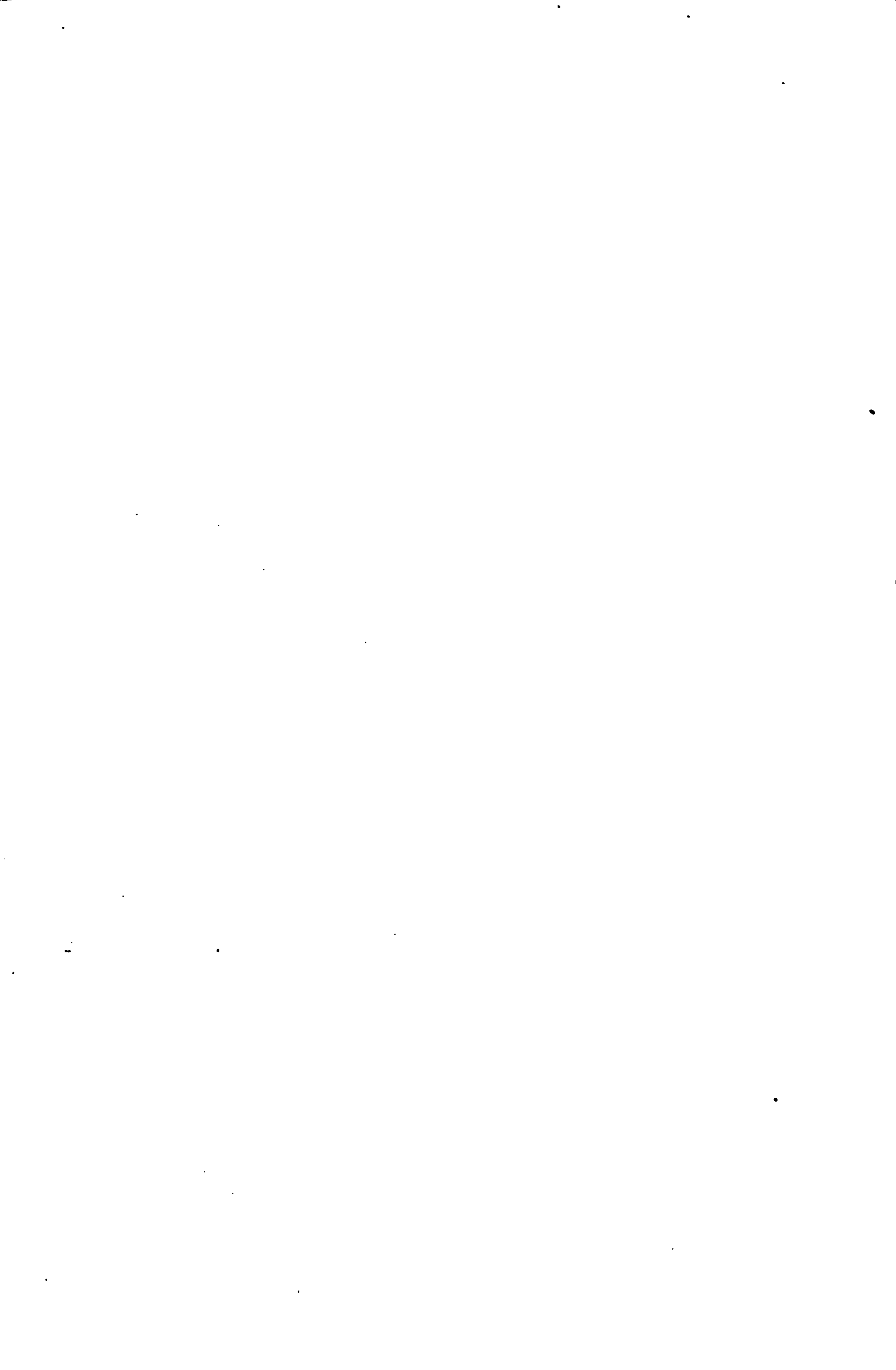

UC-NRLF
B 3 481 655


SEAL OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LET THERE BE LIGHT
1868



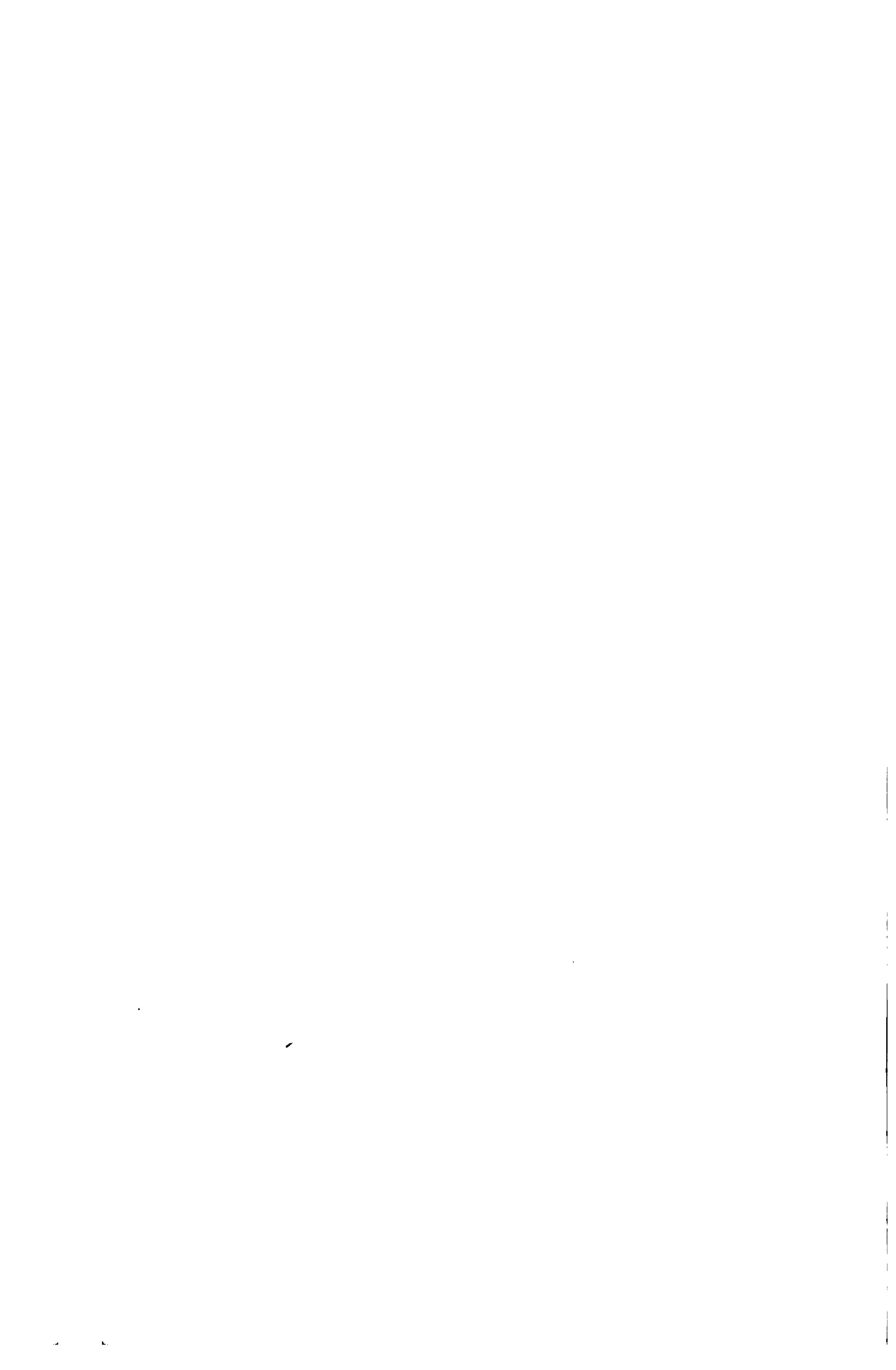




Koch's Jahresbericht

Erster Jahrgang

1890



JAHRESBERICHT

über die Fortschritte in der Lehre von den

GÄHRUNGS-ORGANISMEN

VON

Dr. ALFRED KOCH

Privatdocent der Botanik an der Universität Göttingen

ERSTER JAHRGANG

1890

BRAUNSCHWEIG

HARALD BRUHN

Verlagsbuchhandlung für Naturwissenschaft und Medicin

1891

Vorwort.

Zur Herausgabe des Berichtes, dessen erster Jahrgang hier vorliegt, veranlasste mich die Ueberzeugung, dass eine Zusammenstellung der neuen Untersuchungen über Gährungsorganismen für sehr verschiedene Zweige der Wissenschaft und Praxis von hervorragendem Nutzen sein wird. Denn für die Lösung vieler Fragen der gesammten Physiologie gewinnt das Studium der niederen Wesen immer mehr an Bedeutung. Die Fülle chemisch interessanter Umsetzungen, die von kleinen Organismen ausgelöst werden, sichert diesen andererseits ein lebhaftes Interesse von Seiten der Chemiker. Ganz besonders werden aber auch die Zweige der Wissenschaft, welche sich mit Fragen der Landwirthschaft und der Gährungsgewerbe beschäftigen, aus einer solchen Zusammenstellung der neuen Arbeiten über Gährungsorganismen Nutzen ziehen, denn die Bedeutung der niederen Organismen für Bodenkunde und Pflanzenernährungslehre, für Milchwirthschaft, für Bier- und Weinbereitung wird von Tag zu Tage umfassender. Aber auch die Fragestellung der Untersuchungen über pathogene Organismen kann nur gewinnen, wenn die Mediziner die Ergebnisse der Forschungen auf dem Gebiete der Morphologie und Physiologie der nicht krankheitserregenden, niederen Organismen berücksichtigen und das wird hoffentlich der vorliegende Bericht sehr erleichtern. Um den Interessen aller dieser Kreise der Wissenschaft und Praxis, von denen ich hoffe, dass sie diesen Jahresbericht mit Wohlwollen begrüssen werden, gerecht zu werden, habe ich ausser den Arbeiten über chemische Einwirkungen niederer Organismen auf todtes Substrat mit Ausnahme der Produktion von Giften, Ptomaïnen u. s. w. auch die für solche Specialuntersuchungen

grundlegenden Arbeiten über Morphologie und allgemeine Physiologie der niederen Organismen und auch, soweit es mir nothwendig erschien, diejenigen über Untersuchungsverfahren aufgenommen. Der besonders wichtigen Frage über die von niederen Organismen producirten Fermente oder Enzyme habe ich einen besonderen Abschnitt gewidmet und darin diejenigen Arbeiten, welche allgemeinere Bedeutung für diese Fermentvorgänge haben, vorangestellt auch wenn sie sich nicht direkt mit niederen Organismen befassen.

Der Natur der Sache nach war es wünschenswerth, diesen Bericht so einzurichten und auszustatten, dass er direkt als Ergänzung des allgemein in so hohem Ansehen stehenden Baumgarten'schen Jahresberichtes benutzt werden kann und ich darf hier wohl Herrn Professor Baumgarten und dem Herrn Verleger für das liebenswürdige Eingehen auf meinen Plan verbindlichsten Dank sagen. In beiden Berichten wird also nun das gesammte Gebiet der niederen Organismen vollständig behandelt.

Allen den Herren, die mich bei Bearbeitung dieses ersten Jahrganges mit Rath und mit Litteratur unterstützt haben, sage ich meinen herzlichsten Dank und bitte im Anschluss daran alle Autoren im Interesse der Sache mich durch Einsendung ihrer Arbeiten recht ausgiebig zu unterstützen, damit Vollständigkeit und möglichst frühzeitiges Erscheinen dieses Berichtes gesichert werden.

Göttingen, im Juli 1891.

Der Verfasser.

Inhalt

I. Lehrbücher, zusammenfassende Darstellungen etc.

[Am Schlusse jedes Titels ist in ( ) die Seite angegeben, auf welcher sich das betreffende Referat findet.]

1. **Cornil, A. V., et V. Babes,** Les bactéries et leur rôle dans l'étiologie, l'anatomie et l'histologie pathologiques des maladies infectieuses. Troisième édition refondue et augmentée contenant les méthodes spéciales de la bactériologie. 385 figg. en noir et en plusieurs couleurs intercalées dans le texte et 12 planches hors texte. 2 tomes. 582 et 608 pp. Paris 1890, Alcan. — (S. 2)
2. **Eberth,** Bakteriologische Wandtafeln. Berlin 1890, Fischer.
3. **Eckenroth, H.,** Die Mikroorganismen im Dienste der Gährungsindustrie (Pharm. Ztg. Bd. XXXV, 1890, p. 393).
4. **Fraenkel, C.,** Grundriss der Bakterienkunde. 3. Aufl. 8⁰. 515 pp. Berlin 1890, Hirschwald. — (S. 3)
5. **Fraenkel, C.,** Manuale di batteriologia. Trad. di F. di Sanfelice. Prefazione di A. Celli. Parte generale.
6. **Günther, C.,** Einführung in das Studium der Bakteriologie mit besonderer Berücksichtigung der mikroskopischen Technik. gr. 8⁰. 253 pp. m. 10 Lichtdrucktafeln. Leipzig 1890, Thieme. [Vergriffen; die zweite Aufl. wird im nächsten Jahrgange dieses Berichtes besprochen.]
7. **Holst, A.,** Oversigt over bakteriologien for laeger og studerende. 8⁰. Kristiania 1890, Aschehoug & Comp.
8. **Jörgensen, A.,** Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie. 2. Aufl. gr. 8⁰. 197 pp. m. 41 Abb. Berlin 1890, Parey. — (S. 6)
9. **Johan-Olsen, O.,** Gjaering og gjaeringsorganismer. (Ueber Gährung und Gährungsorganismen.) Meddelelser fra det gjaeringsfysiologische Labor. på Ringnes & Co. Bryggeri. I. 8⁰. 204 pp. Kristiania 1890.
10. **Kramer, Ernst,** Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur Landwirthschaft und den landwirthschaftlich-technischen Gewerben. I. Theil: Die in der Landwirthschaft durch Bak-

terien bewirkten Vorgänge. 8°. 171 pp. m. 36 Abbildungen. Wien 1890, Gerold. — (S. 4)

11. **Migula, W.,** Bakterienkunde für Landwirthe. Leichtfassliche Darstellung der bisherigen praktisch wichtigen Forschungs-Ergebnisse. kl. 8°. 144 pp. mit 30 eingedr. Abb. Thaer-Bibliothek. Berlin 1890, Parey. — (S. 5)

12. **Migula, W.,** Wandtafeln für Bakterienkunde. Zum Gebrauch bei botanischen und medizinischen Vorlesungen. Imp. Fol. 10 farb. Tafeln. Mit Text: gr. 8°. 7 pp. Berlin 1890, Parey.

13. **Zimmermann, O. E. R.,** Bakteriologische Diagnostik. I. Theil. Chemnitz, Bülz.

14. **Zopf, W.,** Die Pilze. [Encyclopädie der Naturwissensch. I. Abth. I. Theil. Handb. der Botanik, herausgeg. von Schenk. Bd. IV p. 271-781]. Breslau 1890, Trewendt. — (S. 6)

Das umfangreiche und bis auf wenige Abbildungen splendid ausgestattete Werk von **Cornil** und **Babes** (1) beschäftigt sich zwar ganz vorzugsweise mit den pathogenen Bakterien, sei aber trotzdem hier erwähnt, weil es in dem allgemeinen Theile eine sehr ausführliche Zusammenstellung der Technik der Bakterienuntersuchung und -kultur enthält und hier ausser reichhaltigen Angaben über Färbeverfahren, unter denen Ref. aber die über Cilienfärbung nicht fand, auch die von Pasteur benutzten Kulturmethoden besprochen werden, ohne dass deshalb die neueren in Deutschland vorzugsweise mit so grossem Erfolge ausgebildeten Verfahren irgendwie vernachlässigt würden. Dieser Abschnitt enthält auch eine ganze Anzahl von Angaben über Thermoregulatoren für Brütöfen, heizbare Objekttische, dann über Chamberlandfilter und dergleichen. Der allgemeine Theil des vorliegenden Buches enthält ausserdem eine Uebersicht über Morphologie und Physiologie der Bakterien und eine systematische Zusammenstellung vieler Bakterien. Letztere bietet indessen für uns kein besonderes Interesse, weil die Verf. in der Ueberzeugung, dass eine natürliche Anordnung der Bakterien noch nicht möglich sei, der Eintheilung in Mikrokokken, Bakterien, Bacillen und Spirobakterien folgen und die Unterabtheilungen nach mehr praktischen Gesichtspunkten machen und z. B. die Bacillen in gährungserregende Bacillen, solche aus Luft, aus Wasser, solche die bei hohen Temperaturen leben, pathogene u. s. w. eintheilen. Die Zusammenstellung dürfte besonders in Bezug auf die von medizinischer Seite beschriebenen Formen ziemlich vollständig sein, während andererseits z. B. B. Megaterium in dem System nicht aufgeführt ist und die Arbeiten von Winogradsky über Schwefelbakterien nicht benutzt sind.

Fraenkel's (4) Grundriss ist aus den Vorträgen des Verf. bei Gelegenheit der monatlichen bakteriologischen Kurse im hygienischen Institut zu Berlin hervorgegangen und ist deshalb hier zu erwähnen, weil das Buch eine auch für den Nichtmediziner oft sehr brauchbare, äusserst ausführliche Zusammenstellung der Verfahren zur Züchtung und Untersuchung der Bakterien enthält. Spezieller besprochen werden naturgemäss nur eine kleinere Auswahl der den Leser dieses Berichtes besonders interessirenden, nicht pathogenen Bakterienarten. An den Anfang des Buches stellt der Verf. einen Abschnitt über System, Morphologie und Biologie der Bakterien, auf dessen Lektüre leider die oben ausgesprochene Empfehlung nicht ausgedehnt werden kann und wir dürfen wohl hoffen, dass der Verf. in einer neuen Auflage seinen bisherigen Standpunkt, wonach den Mediziner die Bakterien fast nur aus ätiologischen Gründen beschäftigen und derselbe den Botanikern, den eigentlichen Herren der Bakterien, wie er sie selbst nennt, System, Namengebung und rein theoretisches Studium überlässt, nur soweit festhält, dass er doch die für eine zusammenfassende Betrachtung auch der medizinisch interessanten Bakterien erspriesslichen Ergebnisse der botanischen Arbeiten gebührend verwerthet und sich nicht damit abfindet, dass er sich nun „in die Jagdgründe der Botaniker ohnehin schon weit genug vorgewagt habe“. Einige Beispiele mögen zur Begründung des Gesagten dienen. So hätte der Verf. wohl nach den Arbeiten von WINOGRADSKY nicht mehr sagen sollen, dass Crenothrix, Cladothrix und Beggiatoa den Botanikern seit langer Zeit als solche Formen bekannt seien, die einen verhältnissmässig weiten Formenkreis durchlaufen und dass sie unter Umständen als lange Fäden, grössere oder kleinere Stäbchen, Kugelzellen oder schraubenförmig gewundene Glieder auftreten könnten. Bei Besprechung der Sporenbildung ist der Ausdruck, dass die zuerst im Zellinhalt auftretenden dunkleren Stellen bald in einander überfliessen, mindestens kein glücklicher und hinsichtlich der Keimung von B. subtilis und B. Megaterium hebt Verf. nicht alle wichtigen Punkte hervor. Ungerechtfertigt ist es andererseits nach unserer Ansicht, wenn der Verf. DE BARY's Eintheilungsversuch nach der Art der Sporenbildung so absprechend und einfach als zum Mindesten verfrüht bezeichnet. Hinsichtlich der Andeutungen des Verf. über die Physiologie der Bakterien sei zum Schluss als wünschenswerth hervorgehoben, dass die Gährungsvorgänge doch etwas ausführlicher besprochen und in Zusammenhang mit dem Sauerstoffbedürfniss der Bakterien gebracht und von den Fermenten auch nicht nur die gelatinelösenden erwähnt werden. Dafür könnte manches Unwichtige gekürzt werden.

Kramer (10) behandelt in dem vorliegenden ersten Bande seines

Buches zuerst in einem allgemeinen Theil die Form und das Leben der Bakterien, sowie die zu deren Züchtung und Untersuchung ausgebildeten Verfahren, dann im speziellen Theil die Bakterien des Bodens und die durch dieselben im Boden bewirkten Vorgänge, die Zersetzung des Düngers, respektive der organischen Substanz durch Bakterien, das Zusammenleben höherer Pflanzen (Leguminosen) mit Bakterien, die bei Kulturpflanzen und landwirthschaftlichen Nutzthieren Krankheiten verursachenden Bakterien. Der noch ausstehende zweite Theil des Buches wird die in den landwirthschaftlich-technischen Gewerben durch Bakterien verursachten Vorgänge behandeln.

Die Darstellung des Verf. ist im Allgemeinen ansprechend und zeugt von umfassender Benutzung der Litteratur. Im Einzelnen freilich finden sich manche ungenaue oder fehlerhafte Darstellungen, die allerdings zum Theil auf Rechnung der vom Verf., wie er ausdrücklich bemerkt, benutzten Quellenwerke zu setzen sind. So findet sich die wunderbare Auffassung der Sporenentstehung als Fruchtbildung und die unklare Darstellung der Entwicklung der Endosporen, zum grössten Theile auch bei FRAENKEL (vergl. p. 3 dieses Berichtes), wozu freilich bei KRAMER auch noch einige Druckfehler gekommen zu sein scheinen (vergl. bei KRAMER die Stelle, wonach die Spore von einer festen Sporenhaut, dem wasserklaren Rest der fruchttragenden Spore umgeben ist). Bei Besprechung der Einwirkung der Bakterien auf ihre Nährsubstanzen hätten die von den Bakterien produzirten Fermente ihrer Bedeutung gebührend erwähnt und in scharfen Gegensatz zu den Gährungsvorgängen gesetzt werden müssen. Ausserdem hätte der Ref. die verschiedene Resistenz der Bakterien gegen Austrocknen und ihre Fähigkeit im Wasser längere oder kürzere Zeit am Leben zu bleiben im Interesse des Verständnisses der Verbreitungsbedingungen der Bakterien durch Wasser und Luft erwähnt und wäre auf die Wichtigkeit der biologischen Bedingungen der Sporenbildung des Milzbrandbacillus für die Verbreitung der Milzbrandkrankheit und die Schutzmassregeln gegen dieselbe eingegangen. Der Ref. hat wenigstens Nichts auf diese Punkte Bezügliches in dem Buche gefunden. Abgesehen von diesen Ausstellungen könnte aber besonders der spezielle Theil den landwirthschaftlichen Lesern wegen der hier aus den so vielfach noch lückenhaften und unsichern Angaben der Litteratur meist geschickt zusammengefassten Darstellungen der einzelnen Fragen empfohlen werden, wenn nicht Verf. das gänzlich unverschuldete Unglück gehabt hätte, dass gerade in diesem Jahre eine Reihe grosser und wichtiger Arbeiten erschienen sind, die eine völlige Neubearbeitung landwirthschaftlich bedeutender Kapitel, wie die über Nitrifikation und Knöllchenbildung seines Buches nothwendig

machen. Deshalb ist ihm eine baldige neue Auflage seines Buches besonders zu wünschen und dabei wird er hoffentlich auch die angedeuteten Schwächen des allgemeinen Theiles ausbessern und auch für bessere Abbildungen Sorge tragen können.

Migula (11) bespricht in einer für das Verständniss der Praktiker ganz geeignet erscheinenden Weise zuerst Gestalt, Lebensweise, Kultur, Untersuchung, Vorkommen und Verbreitung der Bakterien in der Natur, behandelt dann im Zusammenhange Gährung und Fäulniss, sowie die ansteckenden Krankheiten und schildert im Anschluss daran ausführlicher die Eigenschaften der praktisch wichtigen Bakterienformen.

Bezüglich der Vertheilung des Stoffes kann sich Ref. nicht in allen Punkten mit dem Verf. einverstanden erklären. So wäre es für den Praktiker gewiss erwünscht gewesen, wenn im ersten oder zweiten Kapitel des Buches die Verfahren zur Tödtung oder Entwicklungshemmung der Bakterien ausführlich, klar und vollständig zusammengestellt wären, denn wer sich über die Theorie der Nahrungsmittelkonservirung unterrichten will, sucht nicht unter dem Kapitel „ansteckende Krankheiten“. Auch hätte an dieser Stelle hervorgehoben werden sollen, dass die Bakterien in sauren oder concentrirten Flüssigkeiten nicht wachsen. Die genauer beschriebenen Bakterienformen wären nach Ansicht des Ref. praktischer nach ihren physiologischen Eigenschaften gruppirt worden, damit die Gährungserreger und vor Allem die Erreger einer und derselben Gährung nicht getrennt worden wären, wie es die vom Verf. vorgezogene Eintheilung in Kugel-, Stäbchen-, Schrauben- und Fadenbakterien mit sich bringt. Im Interesse einer neuen Auflage sei erwähnt, dass im Einzelnen in der Darstellung einzelne Ungenauigkeiten untergelaufen sind, wie z. B. dass Beggiatoa Entwicklung von Schwefelwasserstoff bewirke, während sie diesen Körper bekanntlich im Gegentheil oxydirt. Bei der Essiggährung hätte doch die gerade praktisch sehr wichtige Thatsache erwähnt werden müssen, dass die Essigbakterien die Essigsäure weiter zu Kohlensäure und Wasser oxydiren. Die alte Anschauung, dass die Hobelspähne in den Fässern der Schnellessigfabriken nur dadurch wirken, dass sie der alkoholhaltigen Flüssigkeit eine grosse Oberfläche verschaffen, dürfte denn doch nicht mehr vorgetragen werden, da mehrfache Untersuchungen gelehrt haben, dass die auf diesen Spähnen sitzenden Bakterien die Essigbildung bewirken. An von Bakterien verursachten Pflanzenkrankheiten sind nicht, wie Verf. angiebt, nur die gelbe Krankheit der Hyazinthen, sondern noch eine Reihe anderer (z. B. pear blight und eine Krankheit kultivirter Sorghumarten in Amerika) bekannt. Als Ursache für das seltene Vorkommen von Bak-

terien in Pflanzen dürfte doch wohl weniger die schwierige Durchdringbarkeit der Zellwände, als die saure Reaktion der Zellsäfte angeführt werden.

Schon die nach drei Jahren eingetretene Nothwendigkeit einer zweiten Auflage von **Jörgensen's** (8) Handbuch beweist die sehr günstige Aufnahme, welche dieses Buch verdientermassen gefunden hat. Der Hauptvorzug dieses Buches, welches als Anleitung zur Untersuchung der in der Gährungsindustrie vorkommenden Mikroorganismen dienen soll, ist jedenfalls der, dass man hier die sonst Manchem schwer zugänglichen theoretisch und praktisch so überaus erfolgreichen Arbeiten Hansen's und die durch diese hervorgerufene Litteratur bequem und vollständig berücksichtigt und auch die Titel zusammengestellt findet. Der Verf. bespricht erstens die mikroskopische Untersuchung der Mikroorganismen, Sterilisation, Reinkulturverfahren, dann die Luft- und Wasseruntersuchungen, dabei auch Hansen's Verfahren für zymotechnische Zwecke, bringt dann allgemeine morphologische und physiologische Angaben über Bakterien, bespricht eine Reihe von industriell wichtigen Bakteriengruppen, dann einige Schimmelpilze, darauf die Alkoholgährungspilze und endlich die Anwendung der Resultate der wissenschaftlichen Forschung in der Gährpraxis, wobei natürlich Hansen's Bestrebungen und Erfolge ganz in den Vordergrund treten. Für eine neue Auflage darf wohl der Wunsch ausgesprochen werden, dass die Reihe der speziell besprochenen Bakteriengruppen etwas besser nach physiologischen Gesichtspunkten gruppirt wird, damit nicht fermentproducirende Formen und dann wieder „Mikrokokkusartige Organismen" mitten zwischen gährungserregenden Arten besprochen werden.

In dem Handbuche von **Zopf** (14) findet sich eine sehr reichhaltige, auch die neuesten Arbeiten von Hansen und Anderen berücksichtigende Zusammenstellung der Untersuchungen über Hefen.

II. Arbeitsverfahren, Apparate etc.

15. **Ali-Cohen,** Die Chemotaxis als Hülfsmittel der bakteriologischen Forschung (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 161). — (S. 8)
16. **d'Arsonval, A.,** Appareils à température fixe pour embryologie et cultures microbiennes (Archives de physiologie norm. et path. 5. série. t. II, 1890, p. 83). — (S. 15)
17. **Beyerinck, M. W.,** Die filtrirende Wirkung der CHAMBERLAND'schen Bougies (Wissensch. Nachr. d. Nieuwe Rotterd. Courier 1890). — (S. 17)
18. **Blücher, H.,** Eine Methode zur Plattenkultur anaërober Bakterien. (Zeitschr. f. Hygiene Bd. VIII, 1890, p. 499). — (S. 14)
19. **Botkin, S.,** Methode zur Isolirung von Anaëroben. (Zeitschr. f. Hygiene Bd. IX, 1890, p. 383. — (S. 14)
20. **Braatz, E.,** Eine neue Vorrichtung zur Kultur von Anaëroben im hängenden Tropfen (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 520). — (S. 14)
21. **Karlinski, J.,** Eine Vorrichtung zum Filtriren vollständig klaren Agar-Agars (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 643). — (S. 13)
22. **Kitasato, S.,** und **Th. Weyl,** Zur Kenntniss der Anaëroben (Zeitschr. f. Hygiene Bd. VIII, 1890, p. 41). — (S. 14)
23. **Kühne, W.,** Kieselsäure als Nährboden für Organismen (Zeitschr. f. Biologie Bd. XXVII, 1890, p. 172). — (S. 11)
24. **Loeffler,** Weitere Untersuchungen über die Beizung und Färbung der Geisseln bei den Bakterien (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VII, 1890, p. 625). — (S. 9)
25. **Miquel, P.,** Sur un mode particulier de prélèvement du liquide des cultures (Ann. de microgr. t. III, 1890, p. 88). — (S. 15)
26. **Muencke, R.,** Ein neuer Apparat zum Sterilisiren mit strömendem Wasserdampf bei geringem Ueberdruck und anhaltender Temperatur von 101-102° im Innern des Arbeitsraumes mit Vorrichtung zum Trocknen der sterilisirten Gegenstände (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 615). — (S. 11)
27. **Nikiforoff, M.,** Ein Beitrag zu den Kulturmethoden der Anaëroben (Zeitschr. f. Hygiene Bd. VIII, 1890, p. 489). — (S. 13)

28. **Ognjannikow, J. J.,** Mit Benzin geheizter d'Arsonval'scher Thermostat (Wratsch 1890, no. 32 [Russisch]).
29. **Petri, R. J.,** Ein neuer Apparat zum Sterilisiren mit strömenden Wasserdampf von Atmosphärendruck (Arbeiten a. d. k. Gesundheitsamt Bd. VI, 1890, p. 498). — (S. 11)
30. **Petruschky, J.,** Bakterio-chemische Untersuchungen. I. Die Farbenreaktion bakterieller Stoffwechselprodukte auf Lakmus als Beitrag zur Charakteristik und als Mittel zur Unterscheidung von Bakterienarten (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VI, 1889, No. 23/24; Bd. VII, 1890, No. 1 u. 2; Baumgarten's Jahresb. V, 1889, p. 478). — (S. 9)
31. **Pfeffer, W.,** Ein neuer heizbarer Objekttisch nebst Bemerkungen über einige Heizeinrichtungen (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie Bd. VII, 1890, p. 433). — (S. 16)
32. **Smith, Theobald,** Das Gährungskölbchen in der Bakteriologie (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VII, 1890, p. 502). — (S. 14)
33. **Trenkmann,** Die Färbung der Geisseln von Spirillen und Bacillen. 2e Mittheilung (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 385). — (S. 10)

Ali-Cohen (15) prüft im Anschluss an die Angaben von Pfeffer die chemotaktischen Eigenschaften von Bakterien und fand zwar im Gegensatz zu Pfeffer, dass Cholerabacillen und Spirillen Finkler-Prior durch 19,06 % KCl gut angelockt werden, konnte aber diese Bakterien und Typhusbakterien aus Flüssigkeiten, die reizend wirkende Stoffe enthalten, durch Chlorkalium auch nicht herauslocken. Er fand aber ein besseres und für die Bakterien unschädliches Reizmittel in rohem Kartoffelsaft, der Kalium und Asparagin enthält, die nach Pfeffer zu den besten Reizmitteln gehören. Mit Kartoffelsaft kann man nun die Choleraspirillen und die wenig reizbaren Typhusbakterien in destillirtem Wasser sofort und selbst in verdünnten Fæces, Bouillon etc. anlocken, sogar wenn sie in so geringer Zahl vorhanden sind, dass sie mikroskopisch schwer nachgewiesen werden können. Ebenso kann man mit Kartoffelsaftcapillaren aus stark bakterienhaltigen Flüssigkeiten die beweglichen Formen fangen und dann daraus mikroskopische Präparate oder Kulturen herstellen, indem man die Capillare zuschmilzt, äusserlich reinigt und dann zerdrückt. Die verwendeten Capillaren von 70 μ lichter Weite füllte Verf. auf einfache Weise, indem er ungefähr 2 cm lange, beiderseits offene Stücke davon in die Flüssigkeit legte, bis sie zu $^3/_4$ gefüllt waren, dann an einem Ende zuschmolz und mit der Scheere soweit abschnitt, dass die Flüssigkeit bis zum Ende reichte. Diese Capillaren schob er unter auf Objektträgern

liegende Deckgläser oder er überzog den Objektträger mit Ausnahme einer mittleren Stelle, die den Bakterientropfen aufnahm, mit Paraffin und fixirte darin das geschlossene Ende der Capillare und das Deckglas mit Hülfe eines erwärmten Glasstabes.

Petruschky (30) empfiehlt das Mass der Säure- oder Alkalibildung als Mittel zur Unterscheidung von Bakterien und benutzt dazu caseinfreies, durch gereinigtes Lakmus purpurn (zwischen roth und violett) gefärbtes neutrales Milchserum. Die Farbenänderung dient zur vorläufigen, Titrirung mit Zehntelnormalnatron oder -salzsäure zur genauen Bestimmung der Reaktionsänderung. Verf. giebt in tabellarischer Form die übrigens engen Grenzen, in denen die Resultate vieler solcher Bestimmungen schwankten, für 15 Säurebildner und 26 Alkalibildner aus der Reihe der herkömmlicher Weise in medizinischen Instituten gezüchteten Organismen an. Bezogen auf Zehntelnormallösungen bildet z. B. an Säure B. prodigiosus 5-6 $^0/_0$, B. acid. lact. 17-18 $^0/_0$, an Alkali Mycoderma cerevisiae 3 $^0/_0$, Bacillus der blauen Milch 10-11 $^0/_0$. Diese Zahlen dürfen nicht ohne Weiteres auf Versuche mit anderen Nährböden übertragen werden. Bei Untersuchung einer Anzahl Gebrauchswässer von verschiedenen Orten fand Verf. stets ganz schwach alkalische Reaktion; beim Stehenlassen solcher Wässer überwog nach einiger Zeit darin ein alkalibildender, dem B. fluorescens liquefaciens sehr ähnlicher Bacillus. Diese alkalische Reaktion der Wässer ist für die Haltbarkeit sonstiger in das Wasser gelangter Bakterien vielleicht wichtig.

Loeffler (24) fand in Ergänzung seines früheren, noch unsicheren Färbe-Verfahrens[1] für Bakteriengeisseln, dass die Geisseln aller untersuchten Formen sichtbar werden, wenn man zur Beize eine nach der Bakterienart wechselnde Anzahl Tropfen einprocentiger Natronlauge oder bei anderen Formen auf diese eingestellter Essig- oder Schwefelsäure setzt. Das Verfahren gestaltet sich im Einzelnen folgendermassen: Auf die mit Schwefelsäure, Wasser und Alkoholammoniak gereinigten Deckgläser bringt man aus einer in einem Tropfen destillirten oder manchmal besser Leitungswasser vertheilten Reinkulturprobe Bakterien in Wassertropfen und fixirt sie, indem man das Deckglas zwischen den Fingern vorsichtig erwärmt, bedeckt dann das Deckglas mit Beize (auf 10 ccm 20procentiger Tanninlösung 5 ccm kaltgesättigter Eisenvitriollösung), erwärmt 1 Minute bis zur Dampfbildung, spült mit Wasser und absolutem Alkokol ab und erwärmt ebenso lange das Deckglas mit gesättigtem Anilinwasserfuchsin, dem man Natron zusetzt, bis die Lösung eben undurchsichtig wird. Auf

[1]) Baumgarten's Jahresber. V, 1889, p. 568.

diese Weise fand Verf. viele Bakterien mit einer Geissel ausgestattet, andere, wie z. B. Spirillen, B. der blauen Milch (sehr gut für Uebungsversuche: 10 Tropfen Schwefelsäure auf 10 ccm Beize), Kartoffelbacillen, B. subtilis mit mehreren, die manchmal alle von den Polen, manchmal auch von anderen Stellen entspringen sollen. Micrococcus agilis hat die längsten Geisseln. Bei manchen Formen brechen die Geisseln bei der Präparation leicht ab. Die nöthige Beschaffenheit der Beize scheint in gewisser Beziehung zur Säure- oder Alkalibildung durch die Bakterien zu stehen, so dass Säurebildner Alkalizusatz und umgekehrt fordern.

Trenkmann (33) beschreibt ein Färbeverfahren für Geisseln, welches er für bequemer, wie das eben erwähnte hält. Er lässt möglichst eiweiss- und schleimfreie Flüssigkeit auf dem Deckglas eintrocknen, legt sie ohne vorherige Erhitzung in eine Lösung von $2^0/_0$ Tannin und $^1/_2$-$^1/_4$ $^0/_0$ HCl für 6-12 Stunden, spült mit Wasser und legt eine Stunde in Jodwasser hergestellt durch 24stündiges Legen von reinem Jod in Wasser. Dann werden die Präparate mit Wasser abgespült und $^1/_2$ Stunde in schwache Gentianaviolettanilinwasserlösung gelegt. Letztere wird bereitet aus 1 Tropfen alkoholischer concentrirter Gentianaviolettlösung mit 10 ccm Wasser, wovon die Hälfte mit Anilinwasser auf 25 ccm aufgefüllt wird. Geisseln werden nach diesem Verfahren gut gefärbt bei Cholerabacillen, Bacillus Finkler-Prior, B. blicatus Zimmermann (Bakterien unserer Trink- und Nutzwässer 1890), B. subtilis, B. fluorescens liquefaciens, B. liquefaciens, Proteus mirabilis und anderen. Da bei anderen Bakterien die Geisseln sich indessen nach diesem Verfahren schlecht färben, so empfiehlt Verf. 2procentige Tanninlösungen mit 1, 2, $3^0/_{00}$ Salzsäure bei solchen Formen zu versuchen und glaubt, dass sich dann alle Geisseln färben. Geisselfärbung lässt sich zur sofortigen Beobachtung verstärken, wenn man das Präparat in einen Tropfen Jodwasser legt; die Bakterien erscheinen dann dunkel, die Geisseln hell braun. Da die Geisseln erst nach Beizung sich mit Anilinfarben färben und die von Spirillum Undula nach Erhitzung auf 210^0 sich mit Anilinfarben schwach färben, so glaubt Verf., dass die Geisseln denselben Eiweissstoff enthalten, wie die Sporen. Bei Spirillum Undula, wo der Inhalt sich am Ende etwas von der Membran zurückzieht, sah er die Geissel mit dem Inhalt in Verbindung stehen.

Muencke (26) veränderte den Ostwalt'schen Sterilisationsapparat derart, dass der in dem unter dem doppelwandigen cylindrischen Sterilisirraum befindlichen Wasserkessel erzeugte Dampf zwischen die Doppelwände des Sterilisirgefässes eintritt, die zu sterilisirenden Gegenstände von oben nach unten durchströmt und dann zur Ab-

sorption in Wasser geleitet wird. Ein Hahn am Dampfausströmungsrohr gestattet die Regulirung des Druckes im Sterilisirraum, der mit dampfdicht schliessender, durch einmaliges Herumdrehen einer Schraube zu öffnender Thür und stellbarem Sicherheitsventil versehen ist. Sollen die sterilisirten Gegenstände getrocknet werden, so wird durch Ventildrehung der Dampf vom Sterilisirraum abgesperrt und durch ein anderes Rohr abgeleitet; zwei zum Sterilisirraum führende Oeffnungen dienen nun zur Luftcirculation, während der im Mantel befindliche Dampf die zum Trocknen nöthige Wärme liefert.

Petri (29) empfiehlt zum Sterilisiren mit strömendem Dampf den dampferzeugenden Kochtopf von etwa 40 cm Weite und 30 cm Höhe neben dem z. B. 93 cm hohen, 37 cm weiten Sterilisircylinder aufzustellen und die oberen Oeffnungen beider durch ein zweimal rechtwinklig gebogenes, 10 cm weites Rohr zu verbinden, am Boden des Sterilisircylinders aber einen konischen Auslauf zum Austritt von Luft, Condensationswasser und Dampf herzustellen. Der oben in den Cylinder eintretende Dampf kann viel leichter die schwerere Luft aus der unteren Oeffnung herausdrängen, wie bei dem Koch'schen Sterilisirapparat, wo der Dampf unten entsteht und die Luft oben herausgetrieben werden muss. Ausserdem ist bei dem Apparat des Verf. das Einstellen und Herausnehmen der zu sterilisirenden Gegenstände gegenüber dem Koch'schen Apparat sehr erleichtert durch eine seitlich im Cylinder angebrachte Thür und eine am obersten Punkte des die beiden Apparattheile verbindenden Dampfrohres angebrachte verschliessbare Oeffnung, durch welche man den aus dem im Kochen bleibenden Wassergefäss kommenden Dampf ausströmen lässt, während man Gegenstände in oder aus dem Cylinder setzen will.

Kühne (23) empfiehlt als festes Kultursubstrat für Bakterien Kieselsäure, die nach folgendem Rezept dargestellt wird. 3 Vol. käuflichen, dünnflüssigen Wasserglases von 1,08 spez. Gewicht giesst man in 1 Vol. Salzsäure (1 Vol. Wasser und 1 Vol. Salzsäure von 1,17 spez. Gewicht) und dialysirt das Gemisch zur Entfernung von Salzsäure und Chlornatrium. Die reine wässerige Kieselsäurelösung wird dann in der Platinschale direkt über der Flamme durch mässiges Kochen bis zum ersten Entstehen eines Häutchens unter Fortblasen der sich am Rande ausscheidenden festen Säure concentrirt, worauf sie das spez. Gewicht 1,02 und einen Gehalt von 3,4$^0/_0$ wasserfreier Säure zu besitzen pflegt. Diese Lösung ist dünnflüssig wie Wasser, zeigt mit empfindlichstem Lakmuspapier etwas zweifelhafte saure Reaktion, verändert sich in geschlossenen Gefässen mehrere Wochen lang nicht, kann auch beliebig gekocht werden. Mit manchen neutralen Salzen, besonders mit Chlornatrium erstarrt sie in einer mit der

Menge des Zusatzes und dem Steigen der Temperatur abnehmenden Zeit. $^{1}/_{10000}$ NaCl lässt bereits die reine Lösung nach einmaligem Aufkochen in 4 Stunden dicklich werden, in 12-24 Stunden erstarren. Für die Herstellung alkalischer Nährböden ist wichtig, dass 3,4procentige Kieselsäure, die durch 0,2$^{0}/_{0}$ phosphorsaures Natron oder 0,02$^{0}/_{0}$ Soda schwach alkalisch gemacht wird, auf Zusatz von 0,25$^{0}/_{0}$ Chlornatrium nach dem Kochen in weniger als einer Stunde erstarrt. Als Nährstoffzusatz verwendete Verf. zunächst Fleischextrakt, löst ein bohnengrosses Klümpchen des Liebig'schen Präparates in 25 cm, sterilisirt diese Lösung und die erwähnte 3,4procentige Kieselsäure durch getrenntes Erhitzen, giesst dann 4 cm der Säure und 0,5-1 cm Fleischextrakt zusammen und kocht nochmals auf. Schnelles Erstarren wird durch Zusatz von 0,5$^{0}/_{0}$ NaCl erzielt und dies ist praktisch, wenn das Kieselsäurenährsubstrat in Röhrchen schnell erstarren soll, für Plattenkulturen darf dagegen kein oder viel weniger NaCl zugesetzt werden. Für Sterilisirung der Kieselsäure durch Ueberhitzung darf man kein Glas verwenden, da dieses bei 140-170^{0} stark angegriffen wird und dadurch wieder Wasserglas aus der Kieselsäure entsteht; Verf. verwendete zugelöthete, mit Alkohol und Aether gereinigte Bleiröhren von 6-10 mm Weite und 1-2 mm Wandstärke, die in Glasröhren mit etwas Wasser eingeschmolzen wurden. Die überhitzte Kieselsäure war stets völlig flüssig und klar. Der Fleischextrakt wird am Besten gleich in 5procentiger Kochsalzlösung gelöst und zwar doppelt so concentrirt, wie oben angegeben, in geschlossenen Glasröhren durch Ueberhitzen sterilisirt. Von den entstehenden Flocken von Erdphosphaten ist er dann leicht klar abzugiessen; seine aus dem Glas herstammende alkalische Reaktion hindert das Erstarren des Kieselsäurefleischextraktgemisches nicht, wenn dasselbe 0,25-0,5$^{0}/_{0}$ NaCl enthält. Die erstarrte Mischung ist für Kulturzwecke sehr angenehm konsistent, durchsichtig wie Glas und kaum gelblich gefärbt. Beim Coaguliren sich bildender Schaum wird vermieden, wenn man die noch siedende Mischung in ein zweites Röhrchen umgiesst. Ob die Gallerte homogen ist, bemerkt man an dem eigenthümlich lang anhaltenden Schwirren der Masse beim Aufstossen des Glases.

Die Kieselsäure verträgt auch das Kochen mit manchen organischen Stoffen, wie Zucker, Glycerin, Deuteroalbumose, Peptonen und Alkalialbuminat, aber nicht mit Leim. Die in dünnen Stückchen der Kieselsäure eingeschlossenen Kulturen kann man auch weiterer chemischer Behandlung unterwerfen. Fermente werden von der Kieselsäure nicht wie von Celloidin fixirt. Die Kieselsäure wird von absolutem Alkohol schwach getrübt, von gesättigter Kochsalzlösung schwach opak gemacht; ein Eintrocknen derselben, vor dem die Präparate geschützt

werden müssen, ist durch Zusatz von Glycerin vor dem Gelatiniren zu erreichen. Diese Angaben des Verf. haben bereits sehr erfolgreiche Anwendung gefunden, da WINOGRADSKY neuerdings mit solcher Kieselsäure zusammengesetzte Nährsubstrate für die Reinkultur nitrifizirender Organismen verwendet hat[1] und es steht zu hoffen, dass damit eine Reihe anderer Organismen der Isolirung zugänglich werden, die heute noch der Reinkultur in der modernen Gelatine spotten.

Karlinski (21) filtrirt Agar durch eine 10 cm hohe Schicht Verbandwatte, welche in einem unten und oben etwas verengten und mit einem mit heissen Wasser gefüllten Mantel umgebenen Blechrohr enthalten ist, indem er in die obere Oeffnung dieses Rohres Luft durch ein Kautschukgebläse einpresst[2].

Nikiforoff (27) bestreicht zur Kultur der Anaëroben im Hängetropfen den Rand der Höhlung eines hohlgeschliffenen Objektträgers mit Vaseline, legt das Deckglas mit den aus wegen des Abdunstens verdünnter Nährlösung hergestellten Kulturtropfen so auf, dass es die Höhlung nicht völlig bedeckt und bringt durch die so erhalten gebliebene Oeffnung einen Tropfen Pyrogallussäure, dann nach Verschieben des Deckglases ebenso auf der anderen Seite Kali an die Unterseite des Deckglases. Dann schliesst man den Ausschliff durch das Deckglas völlig und das sich an der Berührungsstelle beider Gläser vertheilende pyrogallussaure Kali absorbirt nun den Sauerstoff in der Umgebung des Kulturtropfens völlig. Für Versuche im Brütofen zieht Verf. wegen der Wasserkondensation am Deckglas SCHULTZE'sche Objektträger vor und füllt das pyrogallussaure Kali in die Rinne derselben. Für grössere Kulturen in flüssigen Substraten zieht er ein 1 cm weites Glasrohr an beiden Enden kapillar aus, sodass das weite Mittelstück 5 cm lang ist, schmilzt eine Kapillare zu, biegt die andere um, lässt etwas Wasser in das Rohr eindringen, taucht die offene Kapillare in aufgekochte Nährlösung und erhitzt das im Rohr befindliche Wasser zum Sieden. Beim Abkühlen füllt sich dann das Rohr mit Nährlösung und wird nach dem Besäen zugeschmolzen.

Kitasato und **Weyl** (22) kultiviren mit gutem Erfolg Anaëroben im offenen Gefäss nach Zusatz von ameisensaurem Natron (0,3-0,5$^0/_0$) oder indigosulfosaurem Natron (0,1$^0/_0$), welche Körper den vorhandenen Sauerstoff an sich reissen. Der mit indigosulfosaurem Natron versetzte Agar ist tiefblauschwarz, wird aber nach Einsäung reducirender Organismen farblos da Indigweisssulfosäure entsteht; der mit ameisensaurem Natron

---

[1]) Ann. de l'Inst. PASTEUR 1891, no. 2. Vergl. Jahrgang 1891 dieses Berichtes.

[2]) Vergl. JACOBI: BAUMGARTEN's Jahresbericht IV, 1888, p. 508.

versetzte Agar wird dunkelbraun, so weit der atmosphärische Sauerstoff eindringt.

Braatz (20) bringt unter einem hohlgeschliffenen Objektträger einen 5 g Pyrogallollösung fassenden Behälter an, dessen eine Oeffnung in den Hohlraum des Objektträgers mündet, kann also mehr Pyrogallol verwenden, als Nikiforoff nach seinem Verfahren. Der Hohlraum kann mittelst eines zweiten Ansatzrohres des genannten Behälters auch mit Wasserstoff gefüllt werden. Der kleine Apparat ist von Desaga in Heidelberg für 1,50 Mark zu beziehen.

Botkin (19) setzt die Gelatine in deckellosen Petri'schen Schalen auf einer Etagere unter eine mit Paraffinum liquidum abgesperrte Glocke, in die durch einen unter die Glocke gesteckten Kautschukschlauch Wasserstoff geleitet wird, dessen Ueberschuss durch die Sperrflüssigkeit entweicht. Ein zweiter unter die Glocke reichender Schlauch mit Hahn dient zur Prüfung, ob der Wasserstoff in der Glocke schliesslich frei von Sauerstoff ist. Unter der Glocke befindet sich noch ein Schälchen mit Pyrogallussäure.

Blücher (18) kultivirt Bakterien in beliebigen Gasen unter einem in einer mit Glycerin (1 auf 4 Wasser) gefüllten Glasschale umgekehrt stehenden Trichter, durch dessen Rohr das gewünschte Gas, Wasserstoff etc. bis zur völligen Luftverdrängung eingeleitet wird. Der Trichter ist durch ein Bleigewicht beschwert.

Smith (32) empfiehlt zur Demonstration der Gasbildung durch Bakterien das in physiologisch-chemischen Laboratorien besonders zum Zuckernachweis im Harn gebräuchliche Gährungskölbchen, d. h. ein cylindrisches, in einem Winkel von ungefähr 45° gebogenes und auf einem Fuss an der Biegungsstelle so befestigtes Glasrohr, dass beide Schenkel senkrecht in die Höhe ragen. Der längere dieser Schenkel ist oben geschlossen, der kürzere oben offen und in der Mitte zu einer Kugel aufgeblasen. Nachdem der längere, geschlossene Schenkel und die Biegungsstelle mit Nährlösung gefüllt ist, wachsen in ersterem keine aërobe, wohl aber bewegliche, fakultativ anaërobe Formen, weil durch das Sterilisiren die Luft aus der Flüssigkeit ausgetrieben wurde. Wenn die eingesäeten Organismen Gas produciren, so sammelt sich dieses grösstentheils in dem geschlossenen Schenkel und man kann durch Absorption mit Natronlauge und Anbrennen des Restes orientirende Versuche über seine Zusammensetzung machen.

Miquel (25) verwendet, um Flüssigkeiten aus Kulturen zu entnehmen, ohne letztere zu verunreinigen, folgenden Apparat. Das Kulturgefäss ist durch einen Kautschukpfropfen verschlossen, durch den wie bei einer Spritzflasche ein bis zum Boden reichendes und ein über der Flüssigkeit endendes gebogenes Rohr gehen; ersteres sitzt mit

ausgezogener Spitze mittelst Kautschukpfropfens in einem zweiten Gefäss, welches ein seitliches Ansatzrohr und unten eine Spitze hat, die enger als die eben erwähnte ist. Nachdem die Kulturflasche durch das mit Glaswolle verschlossene kürzere Rohr inficirt ist, kann man durch Blasen in dasselbe die Flüssigkeit in das Nebengefäss übertreiben. Für anaërobiotische Kulturen kann der Apparat leicht mit irgend einem Gase gefüllt werden und ebenso kann leicht der Luftzutritt während der Probenahme verhindert werden.

d'Arsonval (16). Bei diesen neuen Apparaten für konstante Temperatur hat d'Arsonval an Stelle des in den sonst gebräuchlichen Thermoregulatoren verwendeten Sperrquecksilbers für den Gaszufluss das zwischen den doppelten Wänden des Apparates befindliche Wasser direkt benutzt und neuerdings anstatt der bei seinen bekannten älteren Apparaten angewandten Kautschukmembran eine solche aus Metall eingeführt. Diese durchaus doppelwandig konstruirten Thermostaten führen zwischen beiden Wänden überall mit Ausnahme der Thür Wasser. An der tiefsten Stelle des Bodens befindet sich eine gefaltete Metallmembran, ähnlich derjenigen in den Aneroidbarometern, und unter dieser ist ein Kasten angebracht, in den das Gas durch ein central eintretendes Rohr von unten eingeleitet wird, um dann durch zwei seitliche Rohre zu den Brennern zu gelangen. Letztere erwärmen das Wasser des Thermostaten durch zwei, durch die ganze Höhe der Wasserschicht hindurch gehende Metallschornsteine. Wenn der Apparat in Gebrauch genommen wird, so erwärmt man den mit vorher durch Auskochen luftfrei gemachtem Wasser völlig gefüllten Thermostaten mit Hülfe der beiden Brenner auf die gewünschte Temperatur und lässt den Ueberschuss des sich ausdehnenden Wassers abfliessen. Dann verschliesst man die am obersten Punkte des Deckels des Thermostaten angebrachte Oeffnung mit einem Kautschukpfropfen, in dem ein oben und unten offenes Glasrohr steckt. Beim weiteren Erwärmen steigt das sich weiter ausdehnende Wasser in dem Glasrohr in die Höhe und durch den so grösser werdenden statischen Druck biegt sich die vorhin erwähnte gefaltete Metallmembran durch und verschliesst dadurch die dicht unter ihr liegende Oeffnung des Gaszuleitungsrohres so weit, dass nur noch die zum Ersatz der vom Thermostaten abgegebenen Wärmemenge nöthige Gasmenge einströmen kann. Dann bleibt die Temperatur des Thermostaten völlig konstant. Das Gaszuleitungsrohr kann übrigens durch ein Gewinde der Metallmembran genähert werden. Einige andere vom Verf. konstruirte Modelle beruhen auf dem gleichen Prinzip.

Pfeffer (31) empfiehlt für Beobachtungen unter dem Mikroskop bei sehr genau regulirter Temperatur das Eintauchen des Objektes in

einen mit Wasser gefüllten, auf dem Objekttisch stehenden Glastrog, der durch eine untergelegte Kupferplatte, unter deren beiden Armen Flammen stehen, erwärmt wird. In das Wasser tauchen neben dem Objekt ein Thermometer und ein STRICKER'scher Regulator mit rechtwinklig gebogenem Quecksilbergefäss. Behufs Beleuchtung der Objekte besitzt die Kupferplatte einen Ausschnitt und ist der Glastrogboden an einer Stelle beiderseits polirt. Für Objekte, die nicht mit Wasser in Berührung kommen sollen, empfiehlt Verf. verschiedene Luftkammern, deren einfachste und meist genügende ein durchbohrter Objektträger ist, auf dessen eine Seite ein Objektträger mit Fett (1 Th. Wachs + 2 bis 4 Theile Schweinefett), auf die andere ein Deckglas mit käuflicher Kautschuklösung oder Bernsteinlack gekittet wird; letztere gestatten ein Sterilisiren bis 170°. Für Oelimmersionen oder Trockensysteme wird dabei ein Glascylinder auf das Deckglas gekittet, der über das Wasserniveau ragt, oder bei Trockensystemen wird eine conische Metallhülse mit aufgekittetem Deckglas so am Objektiv befestigt, dass dieses Deckglas der Frontlinse fest anliegt. Bei dieser Anordnung bleibt bei einer Wassertemperatur von 50° die Temperatur des Hängetropfens hinter der des Wassers um 0,2-0,4° zurück. Die Wassertemperatur schwankt bei einer um 2° sich ändernden Zimmertemperatur nur um ± 0,15° während mehrerer Tage. Der beschriebene Apparat dient auch zu Versuchen mit hoher oder niederer Temperatur und giebt nach den angeführten Zahlen noch etwas bessere Werthe, als das SACHS'sche Luftbad, dessen Temperatur um ± 0,2° C schwankt. Auch wirkt das Objektiv wegen seiner Verbindung mit den nach aussen hervorragenden Metalltheilen hierbei so abkühlend auf den Hängetropfen, dass derselbe bis 0,5° kälter ist, als der umgebende Luftraum.

Im Anschluss hieran wird ein von OSTWALD konstruirter, vom Verf. modifizirter Thermostat empfohlen, in dem die Kulturgefässe in Wasser tauchen, was für sehr genaue Einhaltung der Beobachtungstemperatur sehr wichtig ist. Eisenfreie Stative zu dem Zweck fertigt Mechanikus BÜHLER in Tübingen. Der Wasserthermostat besteht aus einem 10-40 Liter fassenden Wasserbad aus emaillirtem Eisenblech, welches innen einen zweiten Boden aus Messingstäben besitzt, unter dem ein mit Chlorcalcium gefülltes U-Rohr liegt, welches mit einem ebensolchen ausserhalb des Bades befindlichen aber mit Quecksilber gesperrten und so den Zutritt des Gases regulirenden communicirt. Nach Einstellung der gewünschten Temperatur mittelst eines an einem Sammelgefäss befindlichen Glashahnes hält sich die Temperatur bis auf 0,05° constant in Folge des grossen Rauminhaltes des Regulators und des hohen Ausdehnungscoefficienten der Chlorcalciumlösung.

Gleichmässige Temperatur im Wasser wird durch ein Rührwerk erhalten, welches durch eine mittelst kleiner Spitzflamme getriebene Windmühle in Bewegung gesetzt wird.

Dabei bemerkt Verf., dass das über der Quecksilberkuppe des Regulators stehende Ende des Gaszuführungsrohres horizontal, nicht schief abgeschnitten sein muss. Zur Sicherung des Gasabschlusses beim Verlöschen der Flamme liess er durch Rohrbeck die Koch'schen Thermometerspiralen vom Brenner trennen und sammt dem Gashahn an das Gasrohr setzen. Den auf Ausdehnung von Flüssigkeiten beruhenden Thermoregulatoren besonders auch den mit Alkohol oder Aether gefüllten giebt Verf. den Vorzug und bemerkt, dass ihr Inhalt möglichst verkleinert und ihre Oberfläche vergrössert werden muss, wenn sie sich in einem Luftraum befinden. Gegenüber den Luftthermostaten hat der beschriebene Wasserthermostat den Vorzug, dass die Kulturen viel schneller die Temperatur des umgebenden Mediums annehmen, dass die Wassertemperatur beim Einstellen und Herausnehmen von Flaschen nicht merklich geändert wird und eine grössere Konstanz der Temperatur erreicht wird. Der Verf. führt auch einige Zahlen an, welche zeigen, wie viel langsamer Gegenstände die Temperatur eines Luftthermostaten, als die eines Wasserthermostaten annehmen. Bei etwas trockenem Luftraum kann übrigens schliesslich wohl die Temperatur einer Kulturflüssigkeit im Luftthermostaten leicht um 0,1-0,3° C niedriger sein als die der Luft. Immerhin sind für Fälle, wo es nicht auf sehr genaue Einhaltung der Temperatur ankommt, Luftthermostaten bequemer und können bis auf 0,1-0,3° in der Temperatur konstant gehalten werden. Zu bedenken ist, dass eingelegte Metallplatten, wenn sie nicht durch schlechte Wärmeleiter von den Seitenwänden des Thermostaten isolirt sind, nennenswerthen Einfluss auf die Temperatur der auf sie gestellten Gegenstände haben können.

Die beschriebenen beiden Apparate sind von Mechanikus Petzold in Leipzig, Bayersche Strasse No. 13 zu beziehen.

Beyerinck (17) benutzte in ingeniöser Weise Leuchtbakterien zur Prüfung der Dichtigkeit von Filtervorrichtungen, weil dieselben trocken nicht leben können, eine spontane Infektion ausgeschlossen ist und die Stellen, wo diese Bakterien durchwachsen, sofort sichtbar werden. Eine Form der Leuchtbakterien, kurze, dicke Stäbchen, durchdrang die mangelhaften Stellen Chamberland'scher Bougies nicht, während eine andere, dünne Stäbchen darstellende, durch solche Stellen durchdrang. Die Chamberlandfilter sind die brauchbarsten, sie halten die kleinsten bekannten Mikroben eine Zeit lang zurück. (Nach Chem. Centralbl. 1891.)

III. Morphologie der Bakterien und Hefen.

34. Almquist, E., Untersuchungen über einige Bakteriengattungen mit Mycelien (Zeitschr. f. Hygiene Bd. VIII, 1890, p. 189). — (S. 20)

35. Billet, A., Contribution à l'étude de la morphologie et du développement des Bactériacées. Thèse. 8°. 215 pp. Lille 1890, Impr. Danel (Bull. scientifique de la France et de la Belgique publié par A. GIARD t. XXI, 1890, p. 1. pl. I-IX).

36. Bütschli, O., Ueber den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. Vortrag mit 1 Tafel. Leipzig 1890, Winter. [Vergl. Baumgarten's Jahresb. V, 1889, p. 467].

37. Gasperini, G., Recherches morphologiques et biologiques sur un microorganisme de l'atmosphère, le Streptothrix Foersteri Cohn (Ann. de microgr. t. II, 1890, p. 449). — (S. 19)

38. Guignard, L., Sur une nouvelle bactériacée marine, le Streblotrichia Bornetii (Compt. rend. de la soc. de biol. 1890, no. 9). (S. 19)

39. Hansgirg, A., Ueber neue Süsswasser- und Meeresalgen und Bakterien mit Bemerkungen zur Systematik dieser Phycophyten und über den Einfluss des Lichtes auf die Ortsbewegungen des Bacillus Pfefferi (Sitzber. der kgl. böhm. Ges. d. Wissensch. in Prag. 1890). — (S. 19)

40. Laurent, E., Observations sur le champignon du muguet (Bull. de la soc. belge de microscopie. t. XVI, 1890, p. 14). — (S. 21)

41. Messea, A., Contribuzione allo studio delle ciglia dei batterii e proposte di una classificazione (Riv. d' Igiene e Sanita pubbl. I, 1890, no. 14).

42. Mirto, G., Sulla costanza morfologica dei micrococchi (Bollet. d. soc. ital. d. microscopisti t. I, 1890. p. 6).

43. Roux, G., et **G. Linossier,** Recherches morphologiques sur le champignon du muguet (Arch. de méd. exp. I. série, t. II, 1890, p. 62). — (S. 20)

44. Sorokin, N., Noch einmal über Spirillum endoparagogicum (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VII, 1890, p. 123). — (S. 19)

Guignard (38) beschreibt als Streblotrichia Bornetii eine neue Bakteriengattung, die in Form farbloser, stecknadelkopfgrosser Zoogloeen in den Ritzen vom Meere bespülter Felsen vorkommt und die im Habitus den Nostocaceen, in der Wachsthumsweise den Rivularieen ähnelt, aber keine Sporen oder Heterocysten zeigt. Die von einem Punkte ausstrahlend in gemeinsamer Gallerte verlaufenden, 1 μ dicken Fäden dieser Form bestehen aus ungefähr isodiametrischen Gliedern mit fein granulirtem Inhalte und ziemlich dicker, in der gelatinösen Grundmasse manchmal schwer zu unterscheidender Membran. (Nach Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, No. 15.)

Von den durch **Hansgirg** (39) beschriebenen neuen Formen sind erwähnenswerth eine hellblaugrüne Spirulina adriatica von der istrischen Küste, dann Bacillus Pfefferi von Weinkellerwänden aus der Pleissenburg in Leipzig, dessen im Dunkeln unbewegliche, bis 0,5 μ dicke Stäbchen im Lichte bei circa 20° beweglich werden, aber keine Cilien besitzen sollen. Verf. sagt indessen nichts von Reinkulturen, wodurch seine Angaben zweifelhaft werden. Von arthrosporen Formen oder wie er sagt Mycophyceen beschreibt er besonders die seltene Mycacanthococcus cellaris aus der Pleissenburg, die im Dauerzustande stachelige Auswüchse auf der Aussenwand hat, dann Mycotetraedron cellare, auch eine Kellerbakterie, deren Zellen an jeder der vier tetraedrisch gestellten Ecken einen 2 μ langen Stachel tragen.

Sorokin (44) fand jetzt die leeren Sporenmembranen nach dem Auskeimen im Innern der Mutterzellen (vergl. Cent. Bakteriol. Bd. I, 1887). Cilien sind an beiden Enden der Spirillen schon mit schwacher Jodlösung zu sehen.

Gasperini (37) isolirte die Streptothrix Foersteri, die Cohn zuerst aus Concretionen des menschlichen Thränenkanals beschrieb, aus Luft und beschreibt deren Wachsthum auf den üblichen Nährböden. Auf festen Substraten, in denen die genannte Form 1 μ dicke verzweigte Fäden bildet, an denen Struktur nicht zu bemerken ist, erheben sich etwas dickere und plasmareichere Luftfäden, an denen kurzcylindrische Sporen, ganz wie bei einem „Oidium“ in basipetaler Folge entstehen. Die Sporen treiben beim Keimen an einem oder beiden Polen einen unseptirten Schlauch. Bei Sauerstoffabschluss vermag der Pilz wohl etwas zu wachsen, aber keine Sporen zu bilden. Mycel stirbt in Flüssigkeit bei einer 10 Minuten wirkenden Temperatur von 60-65°. Die Sporen sterben im wasserdampfgesättigten Raum bei einer 15 Minuten währenden Temperatur von 100°, halten

aber trocken 10 Minuten 120° aus. Leider hat Verf. die Tödtungsminimaltemperatur in feuchtem Zustande, die für solche Arthrosporen interessant gewesen wäre, nicht genauer bestimmt. Mehrere Tage wirkendes Sonnenlicht verhindert Keimung und Wachsthum. Die Streptothrix wächst besser auf neutralem oder alkalischem Substrat, macht aber selbst die schwach saure Reaktion alkalisch; sie peptonisirt Gelatine und Blutserum und lebt saprophytisch auf Bakterien und Hyphomyceten, deren stickstoffreiche Membranen sie angreift; sie invertirt auch Rohrzucker, verursacht aber keine Alkoholgährung.

Am Schlusse macht Verf. einige Bemerkungen über die systematische Eintheilung der Bakterien und die Einreihung von Streptothrix, hebt hervor, dass zum Unterschiede von vielen sporenbildenden Bakterien Streptothrix Sporen nur an bestimmten Hyphen, nicht an allen Theilen des Myceliums bildet und erklärt sich deshalb, wenn ihn Ref. recht versteht, für die Einreihung von Streptothrix unter die Hyphomyceten.

Almquist (34) beschreibt drei von ihm zu Streptothrix gestellte Spezies; eine trat als Verunreinigung auf, zwei isolirte er durch Gelatineplatten aus Leitungswasser resp. aus dem Gehirn eines an Cerebrospinalmeningitis gestorbenen Patienten. Sie wachsen in Bouillon untergetaucht in zu Flocken verbundenen, verzweigten, $^1/_2$-1μ breiten, scheinbar ungetheilten Fäden, welche dann massenhaft in die Luft hinein mit Oeltropfen bedeckte Luftfäden senden, die die Oberfläche weiss erscheinen lassen; manchmal nehmen einzelne Fadenstücke erheblich an Breite zu. Nach einiger Zeit zerfallen bei zwei Spezies diese Luftfäden in runde, ovale oder kubische Zellen, die in frischer Nährlösung keimen, wobei eine Spezies oft aus einem spitzen Ende ihrer Spore zwei Keimschläuche treibt. Besonders die die Keimung betreffenden Zeichnungen des Verf. sind leider recht mangelhaft.

Den Soorpilz erhielten **Roux** und **Linossier** (43) auf den üblichen aus Soorhäutchen inficirten Gelatinekulturen in kleinen, weissen, nicht verflüssigenden Colonien leicht rein. Die Verf. beschreiben nun weitläufig die hefeartige Sprossung des Soorpilzes, die seine normale Wuchsform ist, während langgestreckte Glieder nur auf gewissen Nährsubstraten erscheinen. Verf. berichten dann über die Art des Wachsthums auf vielen natürlichen Substraten, wie Früchten, Milch, Würze etc., dann auf Gelatine etc. und bemerken, dass der Soorpilz am besten auf gekochten Daucuswurzeln in reinweissen Colonien wächst und überhaupt festen Substraten vor flüssigen den Vorzug giebt. Askosporen konnten die Verf. beim Soorpilz nie erziehen. Dagegen fanden sie bei Kultur in Nägeli'scher Nährlösung (100 g Wasser, 1 Ammoniumtartrat, 0,1 Dikaliumphosphat, 0,02 Magnesiumsulfat,

0,01 Chlorcalcium) mit 1-5% Rohrzucker dickwandige, kugelige Körper, die sie als Chlamydosporen auffassen. Derartige Körper waren schon von GRAWITZ als Sporen gedeutet worden, nicht aber von späteren Autoren. Diese vermeintlichen Sporen entstehen am schnellsten, wenn frisches Aussaatmaterial verwendet wurde und zwar einzeln oder zu zweien nebeneinander, meist am Ende einer Zellreihe des Soorpilzes. In der Jugend unterscheiden sie sich von den Nachbarzellen nur durch etwas glänzenderes Plasma, dickere Membran, lebhaftere mit fortschreitender Entwickelung sich steigernde Färbung durch Jod und besonders auch durch Eosin, schwächere Färbung mit Methylenblau, Gelbfärbung mit Osmiumsäure, welche die anderen Zellen grau färbt. Im ausgewachsenen Zustand sind die Sporen 3-4mal so dick wie die Nachbarzellen. Die letzteren ebenso wie die Sporen in manchen Schichten ihres Inhaltes enthalten Anfangs Glykogen, welches aber succesive aus den benachbarten Zellen verschwindet und sich in der Spore anhäuft. Der Inhalt der letzteren erscheint dann gleichmässig granulirt oder eine grössere Kugel in der Mitte, kleinere am Rande führend; erstere wächst bis zur Reife, während letztere verschwinden. Man kann die Spore durch Druck oder Wasserzusatz zur Kulturflüssigkeit an einer schon vorher durch einen Riss angedeuteten Membranstelle sprengen und dann sehen, dass die eingeschlossenen Kugeln und Körner kein Fett sind und sich mit Anilinfarben nicht färben, sondern dass die starke Färbbarkeit der intakten Spore auf einer kleinen Menge zwischengelagerten, mit Fetttröpfchen durchsetzten Plasmas beruht.

Auf Schnittflächen von Kirschen oder Erdbeeren sahen die Verf. aus diesen Sporen nach einigen Tagen einen mit der Centralkugel in Verbindung stehenden kurzen dicken Fortsatz durch die erwähnte Rissstelle der Membran hervortreiben, der aber nicht weiter wächst. Es ist mindestens fraglich, ob die Verf. diesen Vorgang mit Recht als Keimung auffassen und deshalb auch die Bezeichnung Spore für die beschriebenen Kugeln noch nicht gerechtfertigt. Die Verf. beschreiben schliesslich als Pseudosporangien grössere, dünnwandige Zellen mit körnigem Inhalt, die sprossen können.

Laurent (40) will den Soorpilz als Dematium albicans bezeichnen, weil die Fäden desselben auf festen Nährböden als solche langsam weiter wachsen und seitlich von Zeit zu Zeit Haufen von hefeartigen Zellen abgliedern und weil diese letztgenannten Zellen keine Endosporen bilden und kaum Alkohol erzeugen. Ebenso wie dies LINOSSIER und ROUX für den Soorpilz angeben, bildet auch Cladosporium herbarum in ungünstigen Lösungen wie Aschensalzlösungen unter Zusatz einer organischen Säure oder eines Glykosids meist Fäden und dickwandige,

braune, grosse Zellen, während in günstigen Lösungen meist Sprosszellen auftreten. Auch die Bakterien sollen allgemein desto längere Stäbchen bilden, je ungünstiger die Nährlösung ist und Fäden sollen hier nur auf erschöpftem Substrat auftreten und diese Bildung kurzer Glieder in günstiger Umgebung soll ein Mittel zur Oberflächenvergrösserung und Erleichterung der Aufnahme sein (?? Ref.).

IV. Physiologie der Bakterien und Hefen.

45. **Apostoli** et **Laquerrière,** De l'action polaire positive du courant galvanique constant sur les microbes et en particulier sur la bactéridie charbonneuse (Compt. rend. de l'acad. de Paris t. CX, 1890, p. 918). — (S. 44)

46. **Babes, A.,** Colouring Matters and Aromatic Products from the Bacillus pyocyaneus (Compt rend de la soc de biol. 9. série, t. I. p. 438). — (S. 33)

47. **Behr, P.,** Ueber eine nicht mehr farbstoffbildende Race des Bacillus der blauen Milch (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 485). — (S. 40)

48. **Beu, H.,** Ueber den Einfluss des Räucherns auf die Fäulnisserreger bei der Conservirung von Fleischwaaren (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 513). — (S. 43)

49. **Bovet,** Des gaz produits par la fermentation anaërobienne (Ann. de microgr. t. II, 1890, p. 322).
[Bereits in Baumgarten's Jahresb. 1889, p. 481 referirt].

50. **Buchner, H.,** Ueber die Ursache der Sporenbildung beim Milzbrandbacillus (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 1). — (S. 26)

51. **Buchner, H.,** Ueber den Färbungswiderstand lebender Pilzzellen (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VII, 1890, p. 733). — (S. 28)

52. **Carnelley, Thos.,** and **W. Frew,** The Relative Antiseptic Power of Isomeric Organic Compounds (Journ. of the Chem. Soc. Transactions Vol LVII, 1890, p. 636). — (S. 42)

53. **Chabrié** and **L. Lapicque,** Physiological Action of Selenious Acid (Bull. soc. chim. Paris. 3. série, t. III, no. 4; Compt. rend. de l'acad. de Paris. t. CX, 1890, no. 3). — (S. 46)

54. **Cohn, F.,** Ueber Wärmeerzeugung durch Schimmelpilze und Bakterien. (Nach einem in der Wandervers. der Schlesischen Gesellsch. für vaterl. Kultur zu Brieg gehaltenen Vortrage). 8°. 6 pp. Breslau 1890). — (S. 40)

55. **Cohn F.,** Ueber thermogene Wirkung von Pilzen (Jahresb. d. schles. Ges. f. vaterl. Kultur. 1890). — (S. 40)

56. **Ferranini, Andrea,** De la dose antiseptique et de la dose antipeptique de diverses substances (Compt. rend. de l'acad. de Paris. t. CX, 1890, p. 1284). — (S. 43)

57. **Fischer, Emil,** Synthesen in der Zuckergruppe (Ber. d. chem. Gesellsch. 1890, p. 2114). — (S. 34)

58. **Fischer, Emil,** Synthese der Mannose und Lävulose (Ber. d. chem. Gesellsch. 1890, p. 370). — (S. 34)

59. **Foth, G.,** Die Konservirung gegohrener Getränke durch Elektrizität (Wochenschr. f. Brauerei. 1890, No. 3 p. 51). — (S. 44)

60. **Gessard, C.,** Sur les fonctions chromogènes du bacille pyocyanique (Compt. rend. de l'acad de Paris t. CX, 1890, p. 418). — (S. 33)

61. **Gosio, B.,** e **A. Sclavo,** Contributo allo studio delle fermentazione bacteriche (Riv. d'Igiene e Sanità pubbl. 1890 p. 449).

62. **Gygax, P.,** Ueber die Einwirkung antibakterieller Medikamente auf die Behinderung oder Aufhebung des Wachsthums und Fortpflanzungsvermögens eines in der Milch und im Käse nachgewiesenen rothen Sprosspilzes: Saccharomyces (?) ruber. [Dissertation] 97 pp. Bern 1890, Huber & Co. — (S. 46)

63. **Hansen, E. Chr.,** Nouvelles recherches sur la circulation du Saccharomyces apiculatus dans la nature (Ann. d. scienc. nat. Bot. 7. série, t. XI, 1890 no. 3). — (S. 41)

64. **Hansen, E. Chr.,** Production de variétés chez les Saccharomyces (Ann. de migrogr. t. II, 1890, no. 5; Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen 1890, No. 7). — (S. 37)

65. **Herzfeld,** Bemerkung zu der Arbeit von Wegner [No. 88 S. 32] (Zeitschr. f. Rübenzuckerindustrie Bd. XL, 1890, p. 789). — (S. 33)

66. **Hewelke, O.,** Beiträge zur Kenntniss des Fluornatriums (Deutsche med. Wochenschr. 1890 p. 477). — (S. 44)

67. **Kappes, H. C.,** Analyse der Massenkulturen einiger Spaltpilze und der Soorhefe [Dissertation]. 8°. 55 pp. Leipzig 1890. — (S. 28)

68. **Kitasato, S.,** und **Th. Weyl,** Zur Kenntniss der Anaëroben. II. Der Bacillus Tetani (Zeitschr. f. Hygiene Bd. VIII, 1890, p. 404). — (S. 36)

69. **Laurent, E.,** Étude sur la variabilité du bacille rouge de Kiel (Ann. de l'Inst. Pasteur 1890). — (S. 38)

70. **Laurent, E.,** Note sur les formes-levures chromogènes (Bull. de la soc. royale de botanique de Belgique t. 29, II p. 76). — (S. 39)

71. Lehmann, K. B., Ueber einige Bedingungen der Sporenbildung beim Milzbrand (Sitzber. d. phys. med. Ges. Würzburg 1890, 8. Febr.). — (S. 26)

72. Lewandowski, A., Ueber Jndol- und Phenolbildung durch Bakterien (Deutsche mediz. Wochenschrift 1890 p. 1186). — (S. 36)

73. Lewith, Ueber die Ursache der Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Temperaturen. Ein Beitrag zur Theorie der Desinfektion (Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. XXVI p. 341). [Vergl. BAUMGARTEN's Jahresber. V, 1889, p. 484].

74. Liebermann, L., Nachweis der Metaphosphorsäure im Nukleïn der Hefe (Pflüger's Archiv Bd. XLVII, 1890, Heft 4/5 p. 155; Sitzber. der math. nat. Kl. der Ungar. Akad. der Wissensch. 1890, Jan. — (S. 32)

75. Linossier, G., et G. Roux, Recherches biologiques sur le champignon du muguet [Deuxième mém]. (Arch. de méd. exp. t. II, 1890, p. 222). — (S. 30)

76. Linossier, G., et G. Roux, Sur la nutrition du champignon du muguet (Compt. rend. de l'acad. de Paris, t. CX, 1890, p. 355). — (S. 31)

77. Loew, O., Verhalten niederer Pilze gegen verschiedene anorganische Stickstoffverbindungen (Biol. Centralbl. Bd. X., p. 577).

78. Loew, O., Giftwirkung des Diamids (Ber. d. chem. Ges. 1890, p. 3203). — (S. 46)

79. Loew, O., Katalytische Bildung von Ammoniak aus Nitraten (Ber. d. chem. Ges. 1890 p. 675). — (S. 35)

80. Neumayer, Joh., Untersuchungen über die Wirkung der verschiedenen Hefearten, welche bei der Bereitung weingeistiger Getränke vorkommen, auf den thierischen und menschlichen Organismus [Dissertation]. München 1890. — (S. 34)

81. Osborne, A., Die Sporenbildung des Milzbrandbacillus auf Nährböden von verschiedenem Gehalt an Nährstoffen (Arch. f. Hygiene Bd. XI, 1890, p. 51). — (S. 27)

82. Prochownik und Späth, Ueber die keimtödtende Wirkung des galvanischen Stromes (Deutsche mediz. Wochenschrift 1890, No. 26). — (S. 45)

83. Rey-Pailhade, J. de, Ueber neue Eigenschaften des alkoholischen Extraktes der Bierhefe (Bull. de la soc. chim. de Paris. 3. série, t. III p. 171). — (S. 32)

84. Roeser, P., Contribution à l'étude de l'influence de la température sur les variations morphologiques et évolutives des microorganismes (Arch. de méd. exp. et d'anat. pathol. 1890 p. 139). — (S. 39)

85. **Sanfelice, F.,** Contributo alla biologia e morfologia dei batteri saprogeni aërobi ed anaërobi. 8°. 24 pp. Romà 1890, Tipogr. Frat. Centenari.

86. **Smith, Th.,** Einige Bemerkungen über Säure- und Alkalibildung bei Bakterien (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 389). — (S. 36)

87. **Tappeiner, H.,** Zweite Mittheilung über die Wirkung des Fluornatriums (Arch. f. exp. Pathol. Bd. XXVII, 1890, p. 108). — (S. 44)

88. **Wegner, R.,** Darstellung von Dextran aus Hefe (Vereinszeitschr. f. Rübenzuckerindustrie 1890 p. 789). — (S. 32)

89. **Wyssokowitsch,** Einfluss des Ozons auf das Wachsthum der Bakterien [Mitth. aus Dr. Brehmer's Heilanstalt für Lungenkranke. Görbersdorf 1890]. — (S. 45)

Vergl. zu diesem Abschnitt ausser den nachfolgenden speciellen Abtheilungen auch noch die Arbeiten von Ali-Cohen (p. 8), Gasperini (p. 19), Petruschky (p. 9).

Lehmann (71) resumirt kurz die Ergebnisse der von Osborne (vergl. S. 27) in seinem Institut ausgeführten Prüfung der Buchner-schen Ansicht, dass „eine gewisse Erschöpfung des Nährbodens bedingend oder wenigstens begünstigend für die Sporenbildung sei“.

Buchner (50) wendet sich gegen diese Versuche von Lehmann (Osborne), die sich gegen Buchner's früher geäusserte Ansicht über die Ursache der Sporenbildung beim Milzbrandbacillus richten. Verf. hebt hervor, dass er gesagt habe, die physiologische Ursache der Sporenbildung liege in dem „eintretenden“ Mangel an Ernährungsmaterial und nicht gemeint habe, dieselbe liege in mangelhafter Ernährung überhaupt. Er kultivirte Milzbrandbakterien einerseits in 1 Tropfen, andererseits in 2 ccm derselben Nährlösung und erneuerte in dem letzteren Versuche die Lösung noch einmal. Am folgenden Tage hatten die Fäden in dem Tropfen alle reichlich Sporen gebildet, in letzterem Versuche fanden sich keine Sporen. Wenn man nur bevor die Milzbrandbakterien eine gewisse Entwicklungsstufe erreicht haben für Erneuerung der Nährlösung sorgt, so kann man die Sporenbildung beliebig viele Generationen hindurch verhindern. Ebenso erhielt Verf. bei vergleichenden Versuchen mit destillirtem Wasser und ausgefaulter sterilisirter Fleischflüssigkeit in ersterem sehr viele Sporen, in letzterer keine. Dann macht Verf. Lehmann den Vorwurf, dass er nur die absolute Zahl der Sporen in seinen Versuchen bestimmt habe und nicht das Verhältniss der Sporenzahl zur Zahl der vegetativen Zellen, auf das es hier allein ankomme, da in besseren Nährlösungen natür-

lich auch mehr vegetative Zellen gebildet werden. Auch soll LEHMANN seine Versuche zu spät abgebrochen haben und nicht zu der Zeit, wo in der für Sporenbildung günstigsten d. h. verdünntesten Lösung resp. dem destillirten Wasser die Sporenbildung vollendet war; denn es sei klar, dass schliesslich bei genügend langer Fortsetzung des Versuches überall in den verschiedenen Kulturen Sporenbildung eintrete.

Ausser dem eintretenden Mangel an Nährstoffen begünstigen nach Verf. reichlicher Sauerstoffzutritt, erhöhte Temperatur und ein bestimmter Wassergehalt die Sporenbildung nur indirekt, indem sie das Wachsthum begünstigen und damit namentlich auch einen schnellen Verbrauch der vorhandenen Nährstoffe bedingen. Ausserdem macht Verf. noch auf speziell begünstigende Momente der Sporenbildung aufmerksam, von denen er den Kochsalzzusatz etwas näher verfolgt. Er fand, dass $2^0/_0$ Kochsalz zwar die Vermehrung etwas herabsetzen, aber die Sporenbildung beschleunigen, während ein Zusatz von $4^0/_0$ die Vermehrung noch weiter herabsetzt und die Sporenbildung über die normale Zeit hinaus verzögert.

Osborne (81) will durch am Milzbrandbacillus angestellte Versuche prüfen, ob die Sporenbildung durch eintretenden Mangel an Nährstoffen verursacht wird. Er kultivirte den genannten Bacillus zunächst auf Agar mit verschiedenem Gehalt an Fleischextrakt, dann in verschieden stark verdünnter Bouillon, fand aber nie auf den ärmeren Nährböden stärkere Sporenbildung, die er bei den Bouillonkulturen zahlenmässig feststellte, indem er die sporenfreien Zellen am Schluss des Versuchs durch Erhitzen auf 70^0 tödtete und dann die Sporen mittelst Gelatineplatten zählte. Dann stellte er ebensolche Versuche mit Nähragar an, dessen Nährstoffe durch verschieden lange Kultur von Milzbrand vermindert waren, worauf er sterilisirt wurde. Das Resultat war das gleiche, wie bei den ersten Versuchen; je stärker der Nährboden erschöpft war, desto weniger Fäden wuchsen und je weniger Sporen entwickelte der einzelne Faden, desto geringer war also aus beiden Gründen die Gesammtzahl der Sporen.

Buchner (51) findet, dass nicht nur die Bakteriensporen, sondern auch lebende vegetative Zellen in verschiedenem Masse der Färbung durch basische Anilinfarben einen, wenn auch meist sehr geringen Widerstand entgegensetzen. Klar zeigt dies auch Bierhefe, von deren lebenden Zellen durch Methylviolett (1 : 10000) höchstens der zehnte Theil gefärbt wird, während durch Kochen, Chloroform oder Chlor getödtete Zellen sich alle färben. Manchmal wirkt der aufgenommene Farbstoff, wie Methylviolett (1:6000) tödtlich auf die Zelle, was prak-

tische Bedeutung erlangen kann; andere Farbstoffe (Phloxinroth) wirken erst in höherer Concentration schädlich[1].

Ernährung und Zusammensetzung der Bakterien und Hefen behandeln folgende Autoren:

Kappes (67) untersucht, aus welchen Elementarstoffen sich Spaltpilzzellen aufbauen, welche Stoffe sie bevorzugen und ob und wie weit bei ihnen auch das quantitative Wahlvermögen der höheren Pflanzen zum Ausdruck kommt. Nach einigen Vorversuchen wählt er als Substrat eine Mischung von 1,5 Agar, 1,0 Fleischextrakt, 1,5 Pepton, 0,5 Kochsalz und 95,5 Wasser, impft die Platten mit sterilisirtem Pinsel und schabt endlich die Colonien mit einem Hornspatel ab, ohne dabei etwas von dem elastischen Substrat mitzunehmen. Die Analysenresultate giebt folgende Tabelle wieder:

	100 Theile Trockensubstanz enthalten			100 Theile frische Kultur enthalten			Agarnährboden	Frischer Agarnährboden
	B. prodigiosus	Xerose-Bacillus A	Soorhefe	B. prodigiosus	Xerose-Bacillus A	Soorhefe	Trockensubstanz	
Wasser . . .	—	—	—	85,45	84,93	81,40	—	96,0
Feste Theile	100	100	100	14,55	15,07	18,60	—	4,0
Aether-Extr.	4,83	8,06	4,28	0,7	1,209	0,789	1,52	0,06
Stickstoff . .	11,40	12,12	12,21	1,653	1,819	2,270	6,80	0,272
Asche	13,47	9,52	10,83	1,953	1,428	2 014	27,89	1,116
Kali	1,55	1,06	0,946	0,225	0,159	0,176	3,4	0,136
Natron . . .	3,93	2,34	1,950	0,570	0,351	0,363	9,61	0,384
Kalk.	0,56	0,28	1,472	0,081	0,042	0,274	0,7	0,028
Magnesia . .	1,05	0,58	0,742	0,152	0,087	0,138	0,44	0,018
Phosphors. .	5,12	3,28	5,731	0,742	0,492	1,066	3,69	0,148
Chlor	0,66	0,06	0,032	0,096	0,009	0,006	0,99	0,040
Chlornatrium	1,08	0,10	0,053	0,157	0,015	0,010	1,62	0,066
Kieselsäure .	0,07	0,05	0,210	0,010	0,007	0,039	0,44	0,018

Aus den allgemeinen Beobachtungen, die Verf. bei diesen Massenkulturen macht, ist zu erwähnen, dass dieselben auf neutralisirtem, unfiltrirtem Agar besser als auf filtrirtem wuchsen. Ein schnelles Anwachsen der Kulturen war ausserdem abhängig von einem gewissen Mass von Feuchtigkeit auf der Agaroberfläche, und zwar wie Verf. annimmt deshalb, weil dadurch die diosmotische Zufuhr der Nährstoffe zu der Kulturschicht erleichtert wird. Ueber die Erträge der Massen-

---

[1]) Birch-Hirschfeld: Archiv f. Hygiene, Bd. VII, p. 341; Baumgarten's Jahresb. III, 1887, p. 463.

kulturen sei bemerkt, dass 100 Theile Nährsubstrat ergaben von B. prodigiosus 1,80, vom Xerosebacillus 2,4, von Soorhefe 1,6 Theile Kultursubstanz oder an Trockensubstanz nach derselben Reihenfolge 0,26, 0,36 und 0,33 $^0/_0$ des frischen Kulturbodens. Da das Substrat 4 $^0/_0$ Trockensubstanz enthielt, wovon 1,5 Agar waren, so wurden im Mittel 12 $^0/_0$ dieser Substrattrockensubstanz an Kulturtrockensubstanz geerntet. Durch grössere Concentrirung des Nährbodens ist dieser Ertrag nicht zu steigern. Bei Anwendung fünffacher Steigerung des angegebenen Rezeptes erlosch das Wachsthum fast völlig.

Das abgeerntete Substrat erlaubte kein Wachsthum bei erneuter Besäung mit demselben Organismus, der bereits einmal darauf gewachsen war oder mit manchen anderen Organismen, während wieder andere Formen auf solchem erschöpften Nährboden zu wachsen im Stande waren. Verf. bespricht auch hier die Arbeit von Garrè über Versuche inwieweit Bakterien durch Stoffwechselprodukte den Nährboden unbrauchbar machen, glaubt aber, dass das Verhältniss der einzelnen Bakterienarten zu einander sich in dieser Beziehung sehr verschieden gestaltet je nach dem Masse, in dem der Nährboden den betreffenden Bakterien zusagt; deshalb bemängelt Verf. auch die Eintheilung der Bakterien in symbiotische und metabiotische. Unter den Stoffwechselprodukten seiner Bakterien findet sich in dem abgeernteten Substrat besonders Ammoniak und in Folge seiner Anwesenheit basische Salze. Das Ammoniak diffundirt, wie mit Phenolphtalein versetzter Nähragar zeigt, weit in diesen hinein und scheidet sich auch als phosphorsaure Ammoniak-Magnesia krystallinisch aus. Der Nährboden erwies sich bei erneuter Besäung auch nach Neutralisirung des Ammoniaks für alle untersuchten Formen unbrauchbar, welche Sterilität Verf. nicht nur auf die völlige Erschöpfung des Nährbodens sondern auch auf die Wirkung der Stoffwechselprodukte zurückführt, welche letztere Annahme Erfahrungen mit Schimmelpilzen und der durch den gebildeten Alkohol geschädigten Hefe für sich hat. Der Einfluss der Stoffwechselprodukte kann der überwiegende sein, weshalb wohl auch Verf. auf einem solchen verbrauchten Nährboden Wachsthum und noch dazu sehr spärliches erst erzielen konnte, als er demselben Pepton und Fleischextrakt in einer den ursprünglichen Gehalt weit übersteigenden Menge zusetzte. Der nachtheilige Einfluss der Stoffwechselprodukte wird auch illustrirt, wenn man zwei ungleiche Hälften einer Kartoffel mit B. prodigiosus impft und nach der Entwickelung der Kultur von der dickeren Kartoffelhälfte die einige Millimeter dicke Schicht, um die sie stärker ist wie die andere sammt der Kultur abschneidet. Dann wächst auf der neuen Schnittfläche eine neue Kultur viel spärlicher, was wohl nicht von Mangel an Nährstoffen herrühren kann.

Zu den Analysenresultaten bemerkt Verf., dass die beiden Spaltpilze etwa doppelt so viel Kalk wie Magnesia aufgenommen, während bei der Soorhefe das umgekehrte und im Nährboden ein völlig verschiedenes Verhältniss besteht; der Natrongehalt überwiegt den Kaligehalt, während im Nährboden dreimal soviel Natron wie Kali enthalten ist. Demnach hält Verf. eine wechselseitige Vertretung von Kalk und Magnesia einerseits, von Kali und Natron andererseits für möglich. Phosphorsäure überwiegt quantitativ alle übrigen Aschenbestandtheile. Der Stickstoffgehalt der Kultur überwiegt den des Substrates fast um das Doppelte. Verf. spricht demnach den Bakterien und Hefen ein quantitatives Wahlvermögen zu und findet, dass die untersuchten Spaltpilzkulturen in ihren Bestandtheilen sich nicht von der Soorhefekultur unterschieden.

Linossier und **Roux** (75) verwenden bei ihren Versuchen über den Einfluss des Substrates auf die Wachsthumsform des Soorpilzes nur flüssige Medien, weil derselbe auf solchen in der erwähnten Beziehung schärfer reagirt. Sie kommen zu dem allgemeinen Resultat, dass die Wuchsform des Soorpilzes um so complizirter wird, d. h. umso mehr und längere Fäden auftreten, je grösser das Molekulargewicht der Nahrung wird. Zu Aschensalzlösung (0,75 phosphors. Kali, 0,05 schwefels. Magnesia, 0,02 schwefels. Eisen, 0,02 schwefels. Zink, Spur von kiesels. Natron auf 1000 Wasser) setzen sie beispielsweise schwefels. Ammon und als Kohlenstoffquelle Alkohol, Glycerin, milchsaures Natron oder Glykose und erziehen darin nur hefeartige Zellen, während bei Gebrauch von Rohrzucker oder noch mehr bei Dextrin oder Gummi Fäden auftreten. Entsprechend aber in geringerem Grade reagirt der Soorpilz bei Variation der stickstoffhaltigen Nahrung (schwefels. Ammon oder Albumin). In demselben Sinne wirkt die Vergrösserung der gebotenen Menge eines Nährstoffs, z. B. 2-40% Rohrzucker. Merkwürdiger Weise werden diese Wirkungen des Substrates verschärft durch Zusatz von Alkalinitraten, besonders salpeters. Ammon, trotzdem diese weder ernährend noch giftig auf den Soorpilz wirken; es treten aber Fäden hier nur dann auf, wenn die Nährlösung ohne Nitrat auch schon solche erzeugt. Fadenbildung bewirken auch kleinere Dosen von Giften und wahrscheinlich auch nicht ganz reichlicher Sauerstoffzutritt. Für den Erfolg dieser Versuche ist indessen die Art des Aussaatmaterials von Belang. Material aus einer älteren Kultur oder unter dem Einfluss eines Giftes gewachsenes oder solches aus einer Nährlösung, welche Fadenbildung erzeugt, bringt leichter Fäden hervor. Verf. sehen hierin eine Neigung zur Rassenbildung. Aus den hier gegebenen Daten kann man ableiten, wie der Soorpilz in natürlichen Flüssigkeiten, Milch etc. wächst. Schwefelsäure ver-

hindert in einer Menge von 0,98 ($^1/_{100}$ Mol.) g per Liter das Wachsthum des Soorpilzes und verlangsamt es bei Zugabe von 0,49 g, Weinsäure, verhindert selbst bei Zugabe von 24 g pro Liter das Wachsthum nicht, vermindert aber das Erntegewicht auf ein Viertel, während Zugabe von 3 g die Ernte um $12^0/_0$ vermindert. Kleine Alkalimengen ($^1/_{200}$ Mol. kohlens. Natron pro Liter) begünstigen das Wachsthum, grössere erschweren es nur anfänglich, beschleunigen es nachher aber stärker als schwächere Dosen, nachdem ein Theil des Alkalis durch Stoffwechselprodukte neutralisirt ist. Fadenbildung wird durch etwas grössere Säure- und erhebliche Alkalimengen bewirkt.

Ernährung des Soorpilzes: Derselbe ist sehr empfindlich gegen die geringste Hinderung des Luftzutrittes und wächst in reinem Sauerstoff noch besser als in Luft. Bei Luftabschluss ist er in Flüssigkeiten nach 5 Monaten abgestorben, bei Luftzutritt nach einem Jahr noch lebendig. Die Verf. vergleichen dann 29 verschiedene kohlenstoffhaltige Nährstoffe. Bei der Auswahl der zu vergleichenden Gewichte dieser Stoffe überlegen die Verf., dass der Pilz diese Stoffe theils zur Verbrennung als Kraftquelle, theils zum Aufbau seiner Körpersubstanz braucht und zur Assimilation im letzteren Falle desto mehr Kraft durch Verbrennung dargebotenen Materials verbraucht, je mehr sich die Zusammensetzung des Nährstoffes der aus Kohlensäure und Wasser nähert. Sie vergleichen daher die Gewichte der kohlenstoffhaltigen Stoffe mit einander, welche zu ihrer vollständigen Verbrennung gleiche Sauerstoffmengen brauchen. Aromatische Körper, Essigsäure, Oxalsäure und beider Salze, Aldehyd, Aceton, Erythrit, Milchzucker und Stärke sind nicht assimilirbar, assimilirt werden vom Soorpilz in aufsteigender Reihe Weinsäure und deren Salze, Glycerin, Milchsäure und deren Salze, Alkohol, aber besonders Kohlenhydrate mit Ausnahme des Milchzuckers und zwar um so besser je kleiner ihr Molekulargewicht ist; auch Mannit und besonders Pepton sind gute Nährstoffe. Unter den stickstoffhaltigen Körpern, von denen gleiche Gewichte Stickstoff enthaltende Mengen verglichen wurden, sind nächst den Peptonen in absteigender Reihe die organischen, dann die anorganischen Ammoniaksalze, dann Glykokoll, Tyrosin, Asparagin, dann neutrale Amide wie Harnstoff, Acetamid, dann Gelatine, Albumin immer schlechtere Nährstoffe. Salzsaures Anilin wird kaum assimilirt. In allen diesen Versuchen wurde das Erntegewicht verglichen. Vergl. das folgende Referat:

Linossier und **Roux** (76). Das eben Gesagte illustrirt folgende Tabelle, in der die Zahlen die in Procenten ausgedrückten Erntegewichte bezogen auf das Höchste derselben, welches = 100 gesetzt ist darstellen:

Glykose	100	Pepton	228
Rohrzucker	78	Leucin	112
Dextrin	70	Weins. Ammon	100
Mannit	63	Schwefels. Ammon	92
Alkohol	36	Glykokoll	88
Milchsaures Natron	37	Tyrosin	84
Milchsäure	27	Asparagin	84
Gummi	15	Harnstoff	52
		Acetamid	48
		Gelatine	24
		Albumin	16
		Salzs. Anilin	8
		Salpeters. Natron	2
		Stickstofffrei	2

Rey-Pailhade (83) nannte schon in früheren Arbeiten (1888 und 1889) die oder den Körper, der im alkoholischen Extrakt der Bierhefe enthalten ist und der verursacht, dass diese Flüssigkeit beim Erhitzen mit Schwefel Schwefelwasserstoff giebt, Philothion. 1 Liter solchen Extraktes gab 10 mg Schwefelwasserstoff. Der Sauerstoff der Luft zerstört das Philothion nach einigen Tagen, Chlor, Brom oder Jod thuen dies sofort. Verdünnte Salzsäure oder Schwefelsäure verhindern die Schwefelwasserstoffentwicklung, ohne das Philothion zu zerstören; mit Thierkohle entfärbtes Extrakt enthält fast kein Philothion mehr. Das Philothion ist die Ursache, dass Hefeextrakt in schwach saurer Lösung Indigokarmin und alkoholische Lakmuslösung bei Luftabschluss entfärbt. Alkalisches Bierhefeextrakt absorbirt freien Sauerstoff und reducirt ebenfalls Indigokarmin. Mit Sauerstoff liefert Philothion Wasser. Verf. hat das Philothion früher schon in den meisten thierischen Geweben nachgewiesen, sie nach ihrer Verwandtschaft zum Schwefel in Klassen getheilt und bei Eintheilung dieser Gewebe nach ihrer Verwandtschaft zum Sauerstoff dieselben Klassen erhalten. Er hat auch Philothion in jungen aktiven Pflanzengeweben nachgewiesen, was von Selmi und Pollaci bestätigt wurde. Das Philothion scheint demnach physiologisch wichtig zu sein. (Nach Chem. Centralblatt 1890).

Liebermann (74) stellte zum Beweise seiner früheren Angabe[1], wonach man aus Hefenukleïn durch Säuren Metaphosphorsäure ausziehen könnte, das Barynmsalz dieser Säure aus dem Hefenukleïn dar.

Aus reingezüchteter Hefe stellte **Wegner** (88) durch Kochen

[1]) Ber. d. chem. Ges. 1888, p. 598; Pflüger's Archiv Bd. XLIII.

mit Kalkmilch und Fällen des Filtrates mit Alkohol einen weissen, beim Stehen unter Alkohol zerreiblich werdenden Körper dar. Der Rückstand mit Schwefelsäure behandelt gab beim Fällen des Filtrates mit Alkohol einen gelblichweissen, flockigen, nicht spröde werdenden Niederschlag, der das von SCHEIBLER beschriebene Dextran (aus Leuconostoc) darstellte. Er bildete mit Wasser eine opalisirende Flüssigkeit, in der die Dextrankügelchen gequollen suspendirt sind. Mit FEHLING'scher Lösung, die sie nicht reducirt, giebt die Substanz keinen Niederschlag, dagegen mit alkalischer Kupferlösung eine himmelblaue voluminöse Fällung. Das Dextran des Verfassers besitzt das optische Drehungsvermögen $[\alpha]_D = 285,7$, das von SCHEIBLER $= 290$. Es schmilzt unter Zersetzung bei 260^0 und giebt bei Behandlung mit Salpetersäure nur Oxalsäure. (Nach Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 52.)

Herzfeld (65) bemerkt zu WEGNER, dass, da die Zellwand vieler Gährungserreger Dextran giebt, von einer Dextrangährung des Leuconostoc nicht gesprochen werden kann. (Nach Chemikerztg. 1890, No. 32.)

Babes (46) findet in Reinkulturen von B. pyocyaneus *β* ERNST in neutraler Peptongelatine ausser noch nicht näher untersuchten aromatischen Substanzen und Pyocyanin noch andere Farbstoffe. Dieselben verleihen der Kultur nach Entfernung des Pyocyanins eine im reflektirten Lichte röthlichbraune, im durchfallenden Lichte smaragdgrüne Farbe. Dieser Dichroismus verschwindet beim Ansäuern, kommt aber beim Neutralisiren wieder. Hierbei sind ein in Alkohol löslicher und ein darin unlöslicher Farbstoff betheiligt; ersterer ist grün im auffallenden, blau im durchgehenden Lichte, letzterer orangeroth beziehungsweise grünlichblau. Pyoxanthin scheint der genannte Bacillus nicht zu bilden. (Nach Journ. Chem. Soc. 1890.)

Gessard (60). In Bouillon aus Rind- oder Kalbfleisch bildet Bacillus pyocyaneus neben dem in Chloroform übergehenden Pyocyanin wahrscheinlich einen zweiten, grün fluorescirenden Farbstoff. Nach Versuchen des Verf. producirt das Bakterium auf Eieralbumin nur den grünen Farbstoff, dagegen auf peptonisirtem Eieralbumin oder in $2^0/_0$ Peptonlösung nur Pyocyanin; vielleicht werden beide Farbstoffe in Bouillon gebildet, weil darin Eiweiss und Pepton vorhanden sind. Bacillus fluorescens liquefaciens und B. fluorescens putidus bilden ebenfalls einen grünen, fluorescirenden, von dem erwähnten nicht zu unterscheidenden Farbstoff in eiweisshaltigen Lösungen und nicht in solchen, die nur Pepton führen. Ausser in Pepton wird Pyocyanin von B. pyocyaneus in Gelatine gebildet, aber es ist da noch ein gelbgrüner Farbstoff beigemengt, der durch Oxydation roth und rein producirt wird, wenn man der Gelatine $1^0/_0$ Glykose zusetzt. Die Eigenschaften

der Bakterien wechseln also je nach dem Nährboden und sind gleich bei verschiedenen Species.

Wirkungen auf das Substrat behandeln folgende Arbeiten:

Auf diese zusammenfassende Darstellung der Arbeiten **Fischer's** (57) über Synthesen in der Zuckergruppe sei im Hinblick auf die Bedeutung der Zuckerarten für die Gährungsphysiologie hier nachdrücklich hingewiesen und noch besonders hervorgehoben, dass Verf. selbst zu Versuchen darüber auffordert was die Organismen aus den bisher nur künstlich dargestellten und aus der Natur nicht bekannten Zuckerarten machen, ob sie daraus vielleicht neue Eiweissstoffe bilden. Er meint sogar, dass dadurch vielleicht Formänderungen der Organismen herbeigeführt werden können.

Im Speziellen sei erwähnt, dass Verf. alle nun bekannten einfacheren Zuckerarten in die Gruppen der Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen, Heptosen, Oktosen, Nonosen bringt und dass Bierhefe die Triose (Glycerose), die meisten Hexosen (z. B. Glukose) und die Nonose (Mannonose) vergährt, nicht aber Oktosen, Heptosen, Pentosen. Die Geschmacksrichtung der Hefe ist demnach durch die Zahl drei und deren Multipla definirt.

Fischer (58) verwendete zur Spaltung der inaktiven Mannonsäure Penicillium glaucum, welches in einer mit Kaliumphosphat und Magnesiumsulfat versetzten Lösung von mit Ammoniak neutralisirtem i.[1] Mannonsäurelakton üppig wuchs und fruktifizirte. Die Lösung drehte dann im 1dcm Rohr 1^0 nach links. Der Versuch wurde nicht weiter verfolgt. i.Mannose wird durch Bierhefe partiell vergohren, wobei l.Mannose übrig bleibt; letztere wird nämlich von Hefe sehr langsam, d.Mannose dagegen sehr schnell vergohren. Ebenso wird aus i.Lävulose der der d. Reihe angehörende Theil durch Hefe vergohren, während l.Lävulose übrig bleibt. Dies entspricht der bekannten Erfahrung, dass Pilze aus inaktiven Substanzen den Theil wegnehmen, an den sie durch ihre natürliche Erziehung gewöhnt sind.

Neumayer (80) stellte Untersuchungen über die Wirkungen von Saccharomyces apiculatus, zwei Weissbierhefen, einer Branntweinhefe, zwei untergährigen Kulturhefen, zwei Torulaarten und drei wilden Hefen auf den menschlichen und thierischen Organismus an. Er findet alle Hefearten sehr widerstandsfähig gegen die Verdauungssäfte, so dass dieselben den ganzen Verdauungskanal von Mensch und Thier passiren können, ohne getödtet zu werden oder die Gährkraft zu ver-

---

[1]) i., d., l. von inaktiv, dexter und laevus.

lieren. Im Speichel gohren die Hefen ungestört, gegen Magensaft von verschiedenem Salzsäuregehalt verhielten sie sich in Bezug auf Gährung verschieden, widerstanden aber alle den Einwirkungen des Magensaftes sehr energisch. Sämmtliche untersuchte Hefearten können ohne Schaden in Menge genossen werden, wenn gleichzeitig Zufuhr von vergährbarer Substanz vermieden wird. Im anderen Falle wird durch abnorme Gährprodukte, welche die Hefen bei der hohen Körpertemperatur, nicht bei niederer bilden, Magen- und Darmkatarrh erzeugt. Verf. weist dabei auf die schädlichen Fuselöle hin, die desto reichlicher entstehen, je höher die Gährtemperatur liegt. Bei 37^0 C. vergohrene Bierwürze zeigte bitteren und widerlichen Geschmack und erzeugte bei Kaninchen Blutüberfüllung der Magen- und Darmschleimhaut. (Nach Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 29.)

Loew (79) bemerkt, dass die physiologische Umwandlung von Salpetersäure in Ammoniak sich am schönsten in Spaltpilzkulturen beobachten lasse. Wenn man „gewöhnliche Fäulnissbakterien" in einer Lösung von $1^0/_0$ Pepton und $0{,}2^0/_0$ salpetersaurem Kali unter Zusatz von $0{,}2^0/_0$ Dikaliumphosphat kultivirt, so findet man schon nach wenigen Tagen Nitrit und nach $1^1/_2$-2 Monaten das Kalium des Salpeters als kohlensaures Kali und den Stickstoff des Salpeters als kohlensaures Ammoniak vor. Setzt man aber jener Nährlösung noch $0{,}2^0/_0$ Aethylalkohol und etwa ebensoviel doppelkohlensaures Natron zu und schliesst die Luft durch Quecksilber ab, so findet eine Reduktion des salpetersauren Kalis auf Kosten des Alkohols statt. Die Spaltpilze werfen den Sauerstoff des Salpeters auf den Alkohol, der dafür Wasserstoff an den Stickstoff des Salpeters abgiebt; dementsprechend findet man nach Wochen beträchtlich viel Essigsäure:

$$2\,(C_2\,H_6\,O) + N\,O_3\,K = C_2\,H_3\,K\,O_2 + C_2\,H_3\,(N\,H_4)\,O_2 + H_2\,O.$$

Dieses Resultat ist nur durch den energischen Bewegungszustand des lebenden Protoplasmas erklärlich, welches als äusserst labiler Eiweisskörper einen heftigen Schwingungszustand besitzt, der sich dem Alkohol und Salpeter mittheilt und dadurch einen solchen Austausch ermöglicht, wie er den wechselnden Affinitäten entspricht. Zum Beweise dieser Ansicht benutzt Verf. mit Sauerstoff beladenen Platinmohr, dessen Oxydationswirkung er dadurch erklärt, dass die Wärmeschwingungen beim Uebergang in das Platinatom eine Modifikation erfahren und den am Platin verdichteten Sauerstoff in einen correspondirenden Schwingungszustand versetzen. So konnten ausser Oxydationswirkungen auch nur von gesteigertem spezifischen Schwingungszustand abhängige Vorgänge, wie Ueberführung von Nitrat in Ammoniak möglich werden. Der Versuch bestätigte die Vermuthung, denn als Dextrose mit Kalinitrat, Platinmohr und Wasser 6 Stunden bei

65^0 gehalten wurde trat Ammoniak auf und zwar gingen in einem Versuche 45,6 $^0/_0$ des Nitratstickstoffs in Ammoniak über. Dass hierbei nicht durch Wirkung des Platinmohrs auf Dextrose stark reducirend auf Nitrate wirkende Dialdehyde oder Ketonaldehyde entstehen, wurde geprüft. Es wird vielmehr hier erstens die Dextrose hauptsächlich zu Glucon- und Zuckersäure oxydirt, wobei der am Platin verdichtete Sauerstoff langsam verbraucht wird und zweitens findet Atomaustausch zwischen Dextrose und Kaliumnitrat statt, wobei der genannte verdichtete Sauerstoff nur als schwingendes Agens wirkt und nicht verbraucht wird.

Mit diesem Versuch ist nach Verf. ein Vorgang in der Pflanzenzelle aufgeklärt und nachgeahmt. In beiden Fällen setzt sich ein Bewegungszustand in chemische Aktion um. Platin im einen, Protoplasma im anderen Falle wirken durch blossen Contakt oder katalytisch.

Smith (86) bemerkt, dass eine Klassifizirung der Bakterien in Säure- und Alkalibildner auf das Substrat Rücksicht nehmen muss, da viele Bakterien Säure nur bei Gegenwart von Traubenzucker bilden. Hogcholerabacillus β und Bacillus coli bilden langsam Alkali und daneben bei Anwesenheit geeigneten Zuckers Säure. Einer für das Wachsthum schädlichen Alkalianhäufung kann man demnach bei vielen Bakterien durch Zusatz von etwas Zucker vorbeugen.

Lewandowski (72) destillirte Fleischbrühekulturen der unten genannten Bakterien nach Zusatz von Salzsäure; wenn das Destillat mit Bromwasser schnell einen flockig krystallinischen Niederschlag gab, so war Phenol nachgewiesen; in einigen Fällen wurde dann auch noch der Schmelzpunkt des Tribromphenols bestimmt. Indol wurde im Destillat durch die auf Zusatz von Schwefelsäure und Natriumnitrit eintretende Rothfärbung nachgewiesen. Weder Indol noch Phenol bilden die Bakterien des Typhus, Milzbrand, Schweinerothlauf, der Schweinepest, Mäuseseptikämie, Diphtherie, blauen Milch, Pneumonie A. Fraenkel, Pneumonie Friedländer, Wurzelbacillus, Bacterium Zopfii, Bacillus subtilis, B. tetragenus, Staphylococcus aureus, albus, Oidium lactis. Nur Indol aber kein Phenol bilden die Bakterien der Cholera, die von Metschnikoff, Finkler, Deneke, Emmerich, Brieger. Indol und Phenol bilden die Bakterien der Schweineseuche, Hühnercholera, Kaninchenseptikämie, Wildseuche, Frettchenseuche, Rotz, der Kartoffelbacillus, Proteus, Milchsäurebacillus (Hueppe).

Kitasato und **Weyl** (68) fanden, dass Bacillus Tetani in mit Pepton versetztem Rindfleischbrei Phenol bildet, welches hier zuerst als Bakterienprodukt nachgewiesen wird. Ausserdem fanden sie ebenda Indol, Buttersäure und hier nicht zu erwähnende Gifte. Sie berichten

auch, dass Lewandowski aus einem Fäulnissgemisch eine aus Pepton Phenol bildende Form isolirte.

Ueber Bildung von Varietäten berichten folgende Arbeiten:

Hansen (64). Bisher sind wohl zahlreiche Erfahrungen über die Variabilität der Spezies gemacht, aber kaum etwas über die dabei wirkenden Faktoren bekannt geworden. Ueber in dieser Richtung bedeutungsvolle Versuche mit Saccharomyces berichtet Verf. vorläufig in der vorliegenden Mittheilung. Früher (Ann. microgr. 1888 p. 13) hat er gezeigt, dass die aus isolirten Zellen einer Spezies untergähriger Bierhefe gezogenen verschiedenen Kulturen aus verschieden gestalteten langgestreckten oder ovalen Zellen bestehen, dass aber diese Verschiedenheit nach einige Zeit in Bierwürze fortgesetzter Kultur wieder verschwindet, worauf dann alle Kulturen nur ovale Zellen enthalten. Bei Saccharomyces Ludwigii hat er andererseits aus verschiedenen Zellen drei Formen gezogen, von denen die eine viele, die andere wenige, die dritte keine Sporen bildete. Letztere gelangte erst nach lange fortgesetzter, successiver Kultur in Bierwürze zur Sporenbildung, in mit $10^{0}/_{0}$ Dextrose versetztem Hefenwasser aber sofort (Centralbl. für Bakteriol. 1889 p. 632). In einem andern Falle hat er nun aber, und zwar von Saccharomyces Pastorianus, Formen mit neuen Eigenschaften gezogen, welche bei fortgesetzter Kultur nicht wieder verloren gingen (Centralbl. für Bakteriol. 1889 p. 665). Er fand, dass die lange Zeit bei einer über der Maximaltemperatur der Sporenbildung liegenden Temperatur kultivirten Zellen die Fähigkeit zur Sporenbildung verloren hatten und diese in über ein Jahr fortgesetzter und mindestens alle 14 Tage erneuerter Kultur nicht wieder erlangten. Eine auch für die Systematik wichtige Eigenschaft dieser Hefe war also bleibend verändert. Neuerdings hat Verf. auch für andere Hefearten ähnliche Resultate erhalten; bei diesen Versuchen ist nicht nur Temperatur und Lüftung, sondern auch die Zusammensetzung der Nährlösung von besonderer Bedeutung. Bei einer untersuchten Art fand Verf., dass bei derselben, als sie erst einige Zeit in der angegebenen Weise bei hoher Temperatur kultivirt worden war und die Fähigkeit der Sporenbildung noch nicht verloren hatte, die Maximaltemperatur der Sporenbildung sich erhöht hatte. Ob diese Eigenschaft erblich ist, hat er noch nicht festgestellt.

Es fragte sich nun weiter, ob durch jene Kultur bei hoher Temperatur auch andere Eigenschaften der Hefen, z. B. die Gährwirkung verändert werden. Verf. hat zu dem Zweck mit einer Brauereiunterhefe und zwei aus dieser durch verschieden lange Kultur bei hoher

Temperatur gezogene Varietäten A und B Gährversuche im grossen Massstabe in der Brauerei angestellt und gefunden, dass nach Beendigung der Hauptgährung A und B weniger Alkohol, als die ursprüngliche Hefe gegeben hatten. A, die durch kürzere Kultur bei hoher Temperatur erhaltene Varietät zeichnete sich durch bessere Klärung vor B und der ursprünglichen Form aus, ein Unterschied, der nach dreimonatlicher Lagerung des Bieres bei A sich erhalten, bei B aber sich ausgeglichen hatte. Fünf in dieser Richtung angestellte successive Versuche, deren jeder mit Hefe aus dem vorhergehenden angesetzt wurde, ergaben dasselbe Resultat.

Die Varietäten A und B unterscheiden sich auch dadurch von der Urform, dass sie keine Häute bilden und da Verf. Aehnliches bei Versuchen mit anderen Formen fand, schliesst er, dass Hautbildung und Sporenbildung in Beziehung zu einander stehen.

Laurent (69) versuchte unter dem Einfluss solcher Bedingungen, welche auch in der Natur wirken, Varietätenbildung bei Bakterien hervorzurufen und findet dazu geeignet den von Breunig aus Wasser in Kiel isolirten Bacillus, dessen Colonien mikroskopisch von denen des M. prodigiosus nicht zu unterscheiden sind; besonders unter dem Einfluss des Sonnenlichtes verliert diese Form die Fähigkeit Farbstoff zu bilden und diese neue Eigenschaft ist unter Umständen erblich, was sie bei M. prodigiosus nicht ist. Der Verf. beschreibt zunächst den in Rede stehenden Bacillus als 2,5-5 μ lange und 0,8 μ breite, bewegliche, die Gelatine verflüssigende Stäbchen und schildert die Colonien auf verschiedenen Nährböden, deren rother Farbstoff alle Eigenschaften dessen von M. prodigiosus besitzt. Ueber 36^0 bilden die Colonien keinen Farbstoff mehr, ebensowenig bei Luftabschluss, in Wasserstoff oder Kohlensäure. Die in dem letztgenannten Gase erzogenen Colonien erlangen die Eigenschaft der Farbstoffbildung in zwei Generationen noch nicht wieder, die unter den anderen angegebenen Bedingungen gezogenen früher. Die Farbstoffbildung ist auch abhängig von der Reaktion des Substrats. In Flüssigkeiten mit $1^0/_{00}$ Weinsäure wächst der Bacillus überhaupt nicht und hört auf zu wachsen, wenn die von ihm selbst gebildete Säure $5{,}9^0/_{00}$ Weinsäure entspricht. Während bereits gebildeter Farbstoff durch Säure lebhafter wird, wird die Farbstoffbildung schon bei einem Säuregehalt von $4{,}6^0/_{00}$ Weinsäure beeinträchtigt. Dementsprechend wird Farbstoff in Milch wohl bei gewöhnlicher Temperatur aber nicht bei 30-35^0 gebildet, weil der Bacillus in letzterem Falle zu schnell Säure producirt.

Bei 35^0 zeigen die Colonien violettrothe, bei 18^0 carminrothe Farbe und ein und dieselbe Kultur nimmt in den oberflächlichen Schichten wechselweise diese Färbungen an, wenn sie in jene verschiedenen

Temperaturen gebracht wird. Verf. zeigt, dass die Colonien bei Zuleitung von Kohlensäure auch bei 18° violettroth erscheinen und demnach die Erscheinung des Farbenwechsels darin ihren Grund hat, dass die bei 35° kräftigere Respiration mehr Kohlensäure liefert.

Das direkte Sonnenlicht schädigt die Farbstoffbildung auf festen Substraten und es entstehen grösstentheils weisse Colonien. Hatte die Sonnenwirkung nur eine Stunde beispielsweise gedauert, so wurden die weissen Colonien bereits in der folgenden wieder rosenroth, während das fünf Stunden besonnte Material todt war. Dagegen hatten die drei Stunden besonnten Bakterien dauernd das Vermögen der Farbstoffbildung verloren und bildeten in 32 späteren Generationen fortgesetzt nur weisse Colonien. Durch Versuche mit Licht, welches durch Lösungen von Alaun, Kaliumbichromat, Kupferoxydammoniak und schwefelsaurem Chinin gegangen war, stellte Verf. fest, dass an jener Wirkung auf die Farbstoffbildung nur der sichtbare Theil des Spektrums und zwar der stärker brechbare erheblicher betheiligt ist. Die erwähnte, durch Besonnung erhaltene neue Race, bildet in allen flüssigen Nährböden keinen Farbstoff mehr, auf Kartoffeln und Agar aber unter 25° thut sie dies und entfärbt sich auch nicht, wenn sie dann in höhere Temperatur gebracht wird; umgekehrt bilden auch in höherer Temperatur erzogene Colonien in niederer keinen Farbstoff. Zum Schluss erwähnt Verf. noch kurz, dass er durch Erwärmen der farbstofflosen Race auf 56 oder 63° dieser auch die Fähigkeit auf Kartoffeln unter 25° Farbstoff zu bilden genommen habe, während die ursprüngliche farbstoffbildende Race durch Erwärmen auf 63° nicht verändert wird.

Roeser (84) beschreibt einen von Rodet aus Trinkwasser isolirten, dem Typhusbacillus sehr ähnlichen Bacillus, der succesive bei immer niedrigeren Temperaturen von 25-6° kultivirt in ganz kurzen Stäbchen wächst, während durch successive Kultur bei 25-42° lange Fäden erzogen werden. Auf Kartoffeln und anderen festen Substraten sind die Zoogloeen des Bacillus nur bei niederer Temperatur schleimig und durch Geruch ausgezeichnet. Das fädige Wachsthum bei hoher Temperatur sieht Verf. als beginnende Involution an. Leider nimmt er nicht die geringste Rücksicht auf Zellenlänge in den verschiedenen Kulturen.

Laurent (70) beschreibt einen auf Würzegelatine gelbe Colonien bildenden Sprosspilz, den er als eine neue Varietät des Cladosporium herbarum[1] auffasst, weil er sich von Dematium pullulans nur durch die erwähnte Farbstoffproduktion und die Unfähigkeit Gelatine zu verflüssigen und den Fumago-Zustand anzunehmen unterscheidet. Im Uebrigen

---

[1]) Laurent: Ann. de l'Inst. Pasteur t. II, 1888.

aber bildet der Sprosspilz in Würze ebensogestaltete Zellen wie Dematium und ebensolche Fäden mit seitlichen Sprossungen und seine Colonien in Gelatine zeigen wie die von Dematium Verzweigungen, die wie Wurzelhaare an einer Wurzel gestellt sind. Um die spontane Entstehung solcher Racen zu erklären, erinnert Verf. an seine Beobachtung, wonach Kartoffelkulturen von Dematium pullulans im Sonnenlichte rosenrothe Farbe annahmen und den Fumago-Zustand nicht mehr bildeten, während auf der vom Lichte abgewendeten Seite derselben Kartoffel die Colonien schwarz wurden.

Behr (47) untersucht eine der vier aus verschiedenen Quellen stammenden Racen des Bacillus der blauen Milch, welche im Würzburger hygienischen Institut kultivirt werden. Diese eine Race, welche Verf. nach makro- und mikroskopischem Befunde wirklich für eine Reinkultur des B. cyanogenus hält, bildete auf neutraler oder saurer Gelatine, ebensolchem Agar oder Magermilch keinen Farbstoff mehr, verfärbte aber Kartoffeln grau. Es scheint dem Verf. demnach hier eine Varietät vorzuliegen, die auf den genannten Nährböden die Fähigkeit der Farbstoffbildung dauernd verloren hat. Eine solche wird nach Heim auch im kaiserlichen Gesundheitsamte gezogen.

Wärmeentwickelung behandelt der folgende Autor:

Cohn (55) beobachtete, dass im Innern einer Masse von keimender Gerste, die in einen Blech- oder Glascylinder gefüllt war, die Temperatur bis auf 64,5° stieg, also weit über die Tödtungstemperatur dieser Keimpflanzen, die zwischen 40 und 48° absterben. Diese starke Erhitzung wird durch die Vegetation des Aspergillus fumigatus erzeugt, der in so hohen Temperaturen das Optimum der Wachsthumsenergie zeigt und zwar wird das Maximum der Erhitzung bis zu 60° und darüber erreicht, wenn dieser Pilz fruktifizirt. Bei Sauerstoffabschluss bleibt die Erwärmung stehen und hebt bei Sauerstoffzutritt wieder an. Demnach ist der genannte Aspergillus ein energischer Sauerstoffüberträger, wie Aspergillus nigricans, der nach van Tieghem in Tanninlösungen Gallussäuregährung erregt und wie die Essigbakterien. Ausserdem muss dieser übertragene Sauerstoff durch Fermentthätigkeit des Pilzes aktivirt werden, da er sonst die Kohlehydrate des Malzes nicht so energisch verbrennen könnte, wie die beobachtete Temperaturerhöhung voraussetzt. Durch Behandlung mit Kupfervitriol von Aspergillussporen befreite Gerste erwärmt sich beim Keimen nur auf 40°.

Cohn (54) berichtet auch hier zuerst über die Erhitzung gekeimter Gerste durch Aspergillus fumigatus, findet es aber jetzt wahrscheinlicher, dass dieser Pilz durch Vermittelung eines ausgeschiedenen Fer-

mentes grosse Mengen von gelösten Kohlehydraten aus den Gerstekeimlingen aufnimmt, einen grossen Theil davon zur Erhaltung seiner Athmung verbrennt und dabei die Temperaturerhöhung bewirkt. Verf. wendet sich dann zu der Erhitzung von frisch geschnittenem und fest zusammengepacktem Gras und von Pferdemist und findet in allen diesen Fällen die Massen von Bacillen durchsetzt, die nach ihrer Entwicklungsgeschichte, die er in Reinkultur studirte, mit den bekannten Heubacillen identisch sind. Demnach wird jene Selbsterhitzung, die mit intensiver Sauerstoffaufnahme und Kohlensäureabgabe und ausserdem Ammoniakentwicklung Hand in Hand geht durch die Respiration des Heubacillus bewirkt, dessen Sporen am Gras sitzen und mit dem Dünger wieder in den Verkehr kommen. Das Material für diese Verbrennung werden im frischen Gras zunächst Zucker, dann aber nach den auf Heu- und Düngerfermentation bezüglichen Analysen auch Cellulose und Lignose liefern. Bei der Pressheubereitung spielen andere anaërobiotische Gährungen mit, denn hier werden Milchsäure und andere organische Säuren gebildet. Die Selbstentzündung des Heus wird nach Verf. wohl dadurch erzielt, dass durch die Fermentation das Graszellgewebe in eine lockere kohlenstoffreiche Substanz umgewandelt wird, die beim Ausbreiten Sauerstoff so energisch anzieht, dass sie glimmt oder aufflammt.

Hansen (63). In Folge einer Bemerkung von Rommier, dass Saccharomyces apiculatus im Frühjahr in den von Bienen besuchten nektarführenden Blüthen erscheine, von wo er durch die Insekten auf alle möglichen Früchte und die Bienenzellen übertragen werde, in welchen letzteren er überwintere, erinnert Verf. an seine früheren Mittheilungen (Compt. rend. des travaux du laborat. de Carlsberg vol I.), wonach dieser Saccharomyces im Sommer auf zuckerreichen, saftigen Früchten sich vermehrt und im Boden überwintert. Verf. hat nun neue Versuche über diesen Gegenstand angestellt zugleich im Hinblick auf Boutroux's unbegründete Annahme, dass der S. apiculatus vielleicht die Zeit vom Ende des Winters bis zur Reife der ersten saftigen Früchte in Nektarblüthen verbringe. Verf. findet nun in den ersten sechs Monaten des Jahres in Blüthen den gesuchten Saccharomyces nicht, abgesehen von einigen, wohl zufällig positiven Versuchen im Mai, dagegen wohl im Boden. Im Juli und August trifft er ihn aber dann in reichlicher Vermehrung auf den inzwischen süssen Früchten und von hier verbreitet auf Blüthen, Blättern, Zweigen und im Staube der Luft. Später wird diese Hefe in den Blüthen immer seltener und findet sich im letzten Viertel des Jahres wieder nur im Boden. Ohne Erfolg suchte Verf. dieselbe dagegen im Frühjahr auf den Fliegen,

Bienen und Hummeln oder in deren Wohnungen, sowie im Kuh- und Pferdemist. Demnach ist der vom Verf. angegebene jährliche Kreislauf des S. apiculatus der normale.

Die erwähnten Resultate erhielt Verf. indem er S. apiculatus in Blumentöpfen mit Erde im Boden vergrub oder die für Luft- und Wasser durchlässigen Wasserreinigungsröhren aus CHAMBERLAND-Filtern mit steriler Erde gefüllt und mit S. apiculatus besäet in der oberflächlichen Bodenschicht vergrub. Erstere Versuche können nur ein Jahr gehen, letztere wurden nach drei Jahren abgebrochen und zeigten, dass in allen besäeten Röhren S. apiculatus zwar etwas geschwächt aber lebend vorhanden war. Er bleibt also drei Jahre im Boden lebend und bedarf zur Vollendung seines Kreislaufes nicht der Vermittlung nektarführender Blüthen.

In Betreff der anderen Hefen ist nicht bekannt, ob sie regelmässig den gleichen Kreislauf wie S. apiculatus durchlaufen, wenn sie auch nach Versuchen des Verf. mit S. Pastorianus I, ellipsoïdeus I, Carlsberger Unterhefe I und einigen Brauereioberhefen ein Jahr im Boden lebendig bleiben und an dessen Oberfläche einige Sporen bilden. Wie Verf. bemerkt, zeigte schon PASTEUR, dass, als er einen Theil eines Weinberges durch ein Glashaus abschloss, weder im Boden noch auf den Reben und Trauben im August sich Hefe fand, während die frei wachsenden, reifenden Trauben im Oktober mit Hefe bedeckt waren. Die Weinhefen gelangen also auf die reifenden Früchte, aber woher, das ist unbekannt.

Ueber Mittel zur Hemmung der Entwickelung von Bakterien und Hefen handeln folgende Arbeiten:

Carnelley und **Frew** (52) prüfen, welche Menge (in Gramm pro Liter Gelatine) verschiedener Benzendiderivate genügt um Wachsthum auf eine Zeit lang der Luft ausgesetzter Gelatine zu verhindern:

	Ortho	Meta	Para
Natriumhydroxybenzoate	11.6	67.2	m. als 162.1
Natriumphtalate	63.2	—	50.6
Nitrotoluene	m. als 22.0	—	22.0
Natriumnitrobenzoate	101.6	12.1	7.7
Natriumdihydroxybenzene	w. als 3.9	8.1	3.6
Amidotoluene	m. als 1.4	—	1.4
Nitraniline	—	0.84	0.50
Nitrobenzaldehyd	0.30	—	0.24
Natriumnitrophenol	1.72	0.28	0.12
Kaliumnitrophenol	0.90	—	0.12

Natrium-α-naphtol	0.084	
Natrium-β-naphtol	0.230	
Bernsteinsäure	66.0	
Methyloxalat	10.4	
Natriummesaconat	190.0	genügt nicht.
Natriumitaconat	190.0	

Im Allgemeinen sind die Paraverbindungen, also die symmetrischsten, leicht schmelzbarsten und wenigst löslichen bessere Antiseptika als die Ortho- und Metaverbindungen. Ausnahmen sind die Hydroxybenzoate und das Natriumorthodihydroxybenzen. Verbindungen, die COOH enthalten sind wenig, dagegen Phenole und Nitroverbindungen sowie Naphtole und besonders α-Naphtol starke Antiseptika.

Ferranini (56) bezeichnet als dose antipeptique diejenige Menge eines Körpers, die zu einem Liter Flüssigkeit zugesetzt die Peptonisirung von Blutfibrin durch Pepsin verhindert. Die Pepsinlösung wurde durch zwanzigstündiges Extrahiren der Schleimhaut eines Schweinemagens mit 500 ccm Salzsäure (5 g HCl im Liter) gewonnen. Ob Verdauung des Fibrins eingetreten war oder nicht wurde nach dem Auftreten eines Niederschlages bei Behandlung mit Salpetersäure geprüft.

Normale Pepsinflüssigkeit

Antipeptisch wirken bei $1^0/_{00}$	Calomel, Sublimat, Phenol.
Antipeptisch bei $3^0/_{00}$	α-Naphtol, Thymol, Chloral, Resorcin.
Nicht antipeptisch selbst bei $50^0/_{00}$	Jodoform, Borsäure, Chininsulfat, Terpin, Jodol, β-Naphtol.

Auf $^1/_{20}$ verd. Pepsinflüssigkeit

Antipeptisch bei $10^0/_{00}$	Thymol, Saccharin.
Antipeptisch bei $50^0/_{00}$	Salol, Salicylsäure.
Nicht antipeptisch selbst bei $50^0/_{00}$	Chininsulfat, Menthol, Terpin, Jodoform, Borsäure, β-Naphtol.

Die Alkohole sind desto stärker antipeptisch, je höher ihr Molekulargewicht ist; Butyl-, Amyl-, Propylalkohol wirken bei $100^0/_{00}$ in der normalen, erwähnten Pepsinflüssigkeit antipeptisch, Aethylalkohol erst in verdünnter.

Beu (48) untersucht mit Gelatineröhrchen den Bakteriengehalt im Innern verschiedener Sorten käuflicher Wurst, von Schinken, Spickaal, Bücklingen etc. und räucherte auch selbst verschieden lange Zeit bis zu 100 g schwere Stücke von Fleisch, Speck und Wurst. Im Allgemeinen genügt nach diesen Untersuchungen die übliche Zeit der Räu-

cherung um die schnell verflüssigenden Fäulnisserreger abzuschwächen oder zu tödten, während die nicht oder nicht schnell verflüssigenden Bakterien erst nach einer praktisch wegen der Geschmacksveränderung nicht anwendbaren Räucherzeit getödtet werden. Ein mit negativem Erfolge unternommener Versuch der Räucherung von ungesalzenem Fleisch zeigt im Vergleich zu der deutlichen Konservirung gesalzenen Fleisches durch Rauch, dass das Salz ein wichtiger Bundesgenosse des Rauches ist, indem es das Wasser herauszieht und das Fleisch so den desinficirenden Bestandtheilen des Rauches zugänglich macht. An und für sich scheint das Salz nicht stark zu desinfiziren.

Hewelke (66) fand, dass „Torula cerevisiae“ sich bei Gegenwart von $^1/_{100}$ bis $^1/_{300}$ Fluornatrium nicht entwickelt und dass selbst $^1/_{600}$ bis $^1/_{3000}$, ja $^1/_{4000}$ dieses Salzes die Alkoholgährung hemmt. In Harn erhielt sich die saure Reaktion bei Zusatz von $^1/_{2000}$ NaFl 14 Tage, bei $^1/_{600}$ 60 Tage, bei $^1/_{100}$ über einen Monat, während in Harn ohne Zusatz die alkalische Gährung am 3.-5. Tage einsetzte. Blut etc. faulen bei Zusatz von $^1/_{80}$ oder $^1/_{160}$ und selbst $^1/_{640}$ NaFl lange nicht. Auf Nährboden mit $^1/_{150}$-$^1/_{200}$ NaFl wachsen keine Bakterien und eine Entwickelungshemmung ist auch bei Zusatz von $^1/_{600}$ noch merkbar. (Nach Chem. Centralbl. 1890.)

Tappeiner (87) findet, dass 0,5$^0/_0$ Fluornatrium das Wachsthum einiger pathogener Bakterien und auch des Buttersäurebacillus (Hueppe) und des B. coli (Escherich) unterdrückt, während 0,25$^0/_0$ dasselbe nur unvollständig hemmt. 2$^0/_0$ Fluornatrium zu kräftigwachsenden Bouillonkulturen von B. coli gesetzt tödtet dasselbe nach 6 Tagen, wirkt aber auf Sporen (Milzbrand) nicht ein. (Vergl. vorstehendes Referat.)

Apostoli et **Laquerrière** (45) tauchten die beiden Pole eines constanten galvanischen Stromes in geringer Entfernung von einander in Kulturbouillon und beobachteten die bakterientödtende Wirkung desselben. Sie fanden, dass diese Wirkung in direkter Beziehung zur Intensität des Stromes gemessen in Milliampère steht; letztere ist hierbei wichtiger als die Dauer der Einwirkung. Ein 5 Minuten wirkender Strom von 300 Milliampère tödtet Milzbrandbakterien sicher, schwächere Ströme nicht. Dieses Resultat wird nicht alterirt, wenn man die Wärmewirkungen des Stromes ausschliesst und zwar ist stets der positive Pol der einzig wirksame, und wenn er allein wirkt, tödtet er die Bakterien schon bei einer Stromintensität von 100-150 Milliampère. Wie Verf. später zeigen werden, wirkt der Strom auf die Bakterien nur dadurch, dass er Säuren und Sauerstoff frei macht.

Foth (59) hat aus praktischen Gründen versucht, ob in Flüssigkeiten suspendirte Hefe durch galvanische Ströme getödtet werden

könne, worüber bisher kaum Sicheres bekannt war. Verf. arbeitete mit Wechselströmen, weil gleichlaufende Ströme die Flüssigkeiten zersetzen und so den Geschmack der zum Genuss bestimmten Gährflüssigkeiten, für deren Konservirung die Methode angewendet werden sollte, verändern. Er erzielte eine an verminderter Gährthätigkeit nachweisbare Schädigung der Hefe nur dann, wenn er den sekundären Stromkreis des Ruhmkorff'schen Apparates unterbrach und die Pole des Apparates mit den Belegungen einer Leydener Flasche verband. Hierbei trat wider Erwarten auch eine Zersetzung der Flüssigkeit auf und der Verf. war geneigt in den Zersetzungsprodukten und nicht in der Electrizität direkt selbst die Ursache der Schädigung der Hefe zu sehen. Dies wurde besonders durch andere theilweise mit einer Dynamomaschine angestellte Versuche bestätigt, in denen Zersetzungen und damit Schädigungen der Hefe trotzdem der Strom stets gleich stark war nur eintraten, wenn Platinspitzen oder mit Zinn überzogenes Eisen- oder Kupferblech als Elektroden benutzt wurden, nicht bei Anwendung von Platinscheiben; die physikalische Erklärung hierfür giebt Verf. nach Versuchen von Manoeuvrier und Chappuis. Spezifische Zersetzungsprodukte konnten hierbei nicht wirken, weil es für das Resultat gleichgültig war, ob Zucker, Asparagin, Salze in der Flüssigkeit gelöst waren oder nicht. Verf. findet aber durch Versuche mit ozonisirter Luft, die mittelst einer Siemens'schen Ozonisirungsröhre hergestellt und durch Hefe suspendirt enthaltende Flüssigkeit geleitet wurde, dass das bei elektrolytischen Zersetzungen der Gährflüssigkeiten stets auftretende Ozon jedenfalls eine der Ursachen der Abtödtung der Hefe ist. Für praktische Zwecke ist demnach Elektrizität zum Tödten der Hefe nicht anwendbar, weil hierbei stets die Flüssigkeit zersetzt werden muss.

Prochownik und **Späth** (82) konstatirten, dass der zwischen in Bouillon, Gelatine oder physiologische Kochsalzlösung tauchenden Platinelektroden verkehrende Strom keine Fernwirkung auf die in diesen Flüssigkeiten befindlichen Bakterien zeigte. Dann liessen sie Bakterien auf Agar auf den Elektroden wachsen und brachten diese dann erst in physiologische Kochsalzlösung. Die an der Anode befindlichen Bakterien wurden getödtet und zwar Staphylococcus durch einen $^1/_4$ Stunde wirkenden Strom von 60 M-A, während einer von 50 M-A das Wachsthum nur verlangsamte. Nach einer $^1/_2$-1 Stunde währenden Wirkung eines Stromes von 2-300 M-A waren sogar Milzbrandsporen todt. Die Erklärung dieser Erscheinung liegt jedenfalls in der Chlorausscheidung aus dem Kochsalz am positiven Pol.

Wyssokowitsch (89) brachte zur Ozonentwicklung Phosphorstückchen enthaltende Glasröhrchen in Gelatineröhrchen und bestimmte die Ozonmenge mit Wurster's Tetrapapier. Wenn der Ozongehalt 20 mg

auf 100 cbm Luft überstieg, so war eine Wachsthumsverzögerung der meisten Bakterien bemerklich; dieselben wuchsen aber auf frischem Substrat wieder kräftig. Dagegen blieb die 2-4 Tage der Ozonwirkung ausgesetzte Gelatine, die schwach sauer geworden war, dauernd steril, auch nach dem Umschmelzen und nach dem Neutralisiren. (Nach Chem. Centralbl. 1891.)

Nach **Chabrié** und **Lapicque** (53) hindert eine Dosis von $^2/_{1000}$ selenious acid die Vergährung von Fleischbrühe durch Luftbakterien. (Nach Chem. News 1890 p. 265.)

Loew (78) bemerkt, dass in Nährlösungen, die mit $1^0/_{00}$ schwefelsauren Diamids versetzt waren oder neben $1^0/_0$ Methylalkohol $0{,}02^0/_0$ Diamidsulfat enthielten, keine Bakterien oder Schimmelpilze wuchsen, auch wenn die Lösungen neutral oder schwach alkalisch waren, wohl aber in den mit der äquivalenten Menge schwefelsauren Ammoniaks versetzten Controllflüssigkeiten. Hefe, die 2 Tage mit einprocentiger neutraler Diamidsulfatlösung behandelt war, gohr nicht mehr; nach Behandlung mit der zehnfach verdünnten Flüssigkeit gohr sie schwach.

Gygax (62) untersuchte die Widerstandsfähigkeit eines von Demme aus rothem Quark, der zur Darstellung von rothem Käse benutzt war, isolirten rothen Sprosspilzes, der sich von der Rosahefe durch etwas grössere Zellen und dadurch unterscheidet, dass seine Kulturen mehr orangehimbeerroth sind, sein Zellinhalt körnig ist und seine Stichkulturen eine leichte convexe Erhebung, die der Rosahefe eine Einsenkung zeigen. Der Verf. imprägnirte nun entweder Seidenfäden mit dem rothen Sprosspilz, legte diese verschieden lange in verschieden starke Lösungen von Antisepticis und brachte sie dann in Gelatine oder er mischte zu Gelatine den Sprosspilz und die Antiseptika und liess letztere so dauernd mit jenem in Berührung.

Nach der Intensität der wachsthumverhindernden Wirkung ordnen sich in absteigender Reihe die vom Verf. untersuchten Antiseptika folgendermassen: Sublimat, Thymol, Creolin, Phenol, Trichlorphenol, Hydroxylamin, Phenylborsäure, Resorcin, Benzoesäure, Aseptol, salicylsaures Natron, parakresotinsaures Natron. In den Seidenfädenversuchen tödten nur Sublimat (1:5000), Thymol (0,5:100) und Phenol (1:100) den Sprosspilz in 3 Stunden vollständig, alle anderen untersuchten Antiseptika sind dazu erst nach längerer Zeit oder gar nicht im Stande. In Bezug auf die Behinderung der Wachsthumsintensität verhält es sich aber anders. Benzoesäure (5:1000) verlangsamt das Wachsthum nach einer Einwirkung von einer Minute und hebt es in der Concentration 1:100 nach 3 Stunden auf. Sublimat (1:1000) zerstört die Vermehrungsfähigkeit jenes Sprosspilzes selbst bei halbstündiger Einwirkung nicht, was die besondere Resistenz jenes Organismus

beweist. Wenn das Antiseptikum der Gelatine beigemischt wurde, so genügen natürlich geringere Concentrationen. Das Sublimat als bestes Antiseptikum verzögerte in einer Menge von 0,0004 das Auftreten der Colonien um einen Tag, in einer Menge von 0,0006 um 4 Tage und hindert erst in letzterem Falle das Wachsthum deutlich, während ein Zusatz von 0,001 jede Entwicklung des Pilzes aufhebt. Letzteres wird bei Phenol durch die kleine Menge von 0,015 bewirkt und dieser Körper verhindert auch in einer Menge von 0,002 das Auftreten der Rothfärbung, was auch sonst vorkommt. Thymol lässt in einer Menge von 0,0003 die Colonien einen Tag später auftreten und verhindert in einer Menge von 0,002 jedes Wachsthum. Salicylsaures Natron und Benzoesäure erwiesen sich als schlechte Antiseptika; bezüglich der übrigen sei auf das Original verwiesen. Der untersuchte Sprosspilz blieb selbst nach 1 Minute langem Aufkochen wachsthumsfähig, wenn auch die Colonien später sichtbar wurden und anfänglich erst mehrere Tage weiss blieben.

Nach diesen Versuchen ist also der Saccharomyces ruber eine gegen Antiseptika und hohe Temperatur besonders resistente Form.

V. Gährungen im Besonderen.

a) Alkoholgährung.

90. Amthor, K., Ueber Hefeweine und den Ammoniakgehalt in Most und Wein (Weinmarkt 1890, No. 2). — (S. 66)

91. Bau, A., Ueber die scheinbare Zunahme des Dextringehaltes in Bierwürzen während der Gährung (Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 28). — (S. 68)

92. Bau, A., Ueber die scheinbare Zunahme des Dextringehaltes in Bierwürzen während der Gährung, sowie über die Bestimmung der Dextrose und des Dextrins in denselben (Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 42). — (S. 69)

93. Brauer, J. E., Die Wirkung der schwefligen Säure als Antiseptikum bei der Vergährung von Dickmaischen (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1890, p. 328). — (S. 78)

94. Brown, A. J., Versuche über die numerische Vermehrung der Hefezellen (Transact. of the Laboratory Club 1890, No. 4, p. 64). — (S. 58)

95. Brown und **Morris,** Ueber eine neue Methode der Bieranalyse (Transact. of the Laboratory Club vol. III). — (S. 68)

96. Delbrück, Der Einfluss der Lüftung auf Hefe und Gährung und ihre Benutzung zur Vermehrung der Hefeausbeute in der Presshefefabrikation und zur Vergährung der Dickmaischen (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1890; Ergänzungsheft p. 31). — (S. 78)

97. Delbrück, Wie bewährt sich ein Zusatz von Flusssäure zu den Maischen (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1890; Ergänzungsheft p. 26). — (S. 59)

97a. Delbrück, Herstellung schwach vergohrener Biere (Wochenschr. f. Brauerei 1890, p. 633). — (S. 60)

98. Durin, Neue Studien über die Alkoholgährungen. (Bull. Ass. Chim. t. VIII 1890, p. 296). — (S. 67)

98a. Effront, J., Action des acides minéraux dans la saccharification par le malt et la fermentation des matières amylacées (Moniteur scientifique [Quesneville] 1890, 36 pp.). — (S. 72)

99. Elion, H., Beiträge zur Kenntniss der Zusammensetzung von

Würze und Bier (Zeitschr. f. angew. Chemie 1890, Heft 11). — (S. 69)

100. **Gayon, U.,** et **E. Dubourg,** Sur la fermentation alcoolique du sucre interverti (Compt. rend. de l'académie. Paris. t. CX, 1890, p. 865). — (S. 63)

101. **Haas, B.,** Ueber die Bildung von schwefliger Säure bei der Gährung (Zeitschr. f. Nahrungsmitteluntersuchung und Hygiene 1890). — (S. 65)

102. **Hagen-Schouw, A.,** Reine Hefe und Gährung (Transact. of the Labor. Club vol. III, p. 122).

103. **Hansen, E. Chr.,** Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie. 1. Heft. 2. verm. und neu bearb. Aufl. München 1890, Oldenbourg. — (S. 52)

104. **Hansen, E. Chr.,** Ueber die Methode der Hefereinzucht und ihre Anwendung in obergährigen Brauereien (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen Bd. XIII, p. 25). — (S. 70)

105. **Hansen, E. Chr.,** Ueber die bakteriologische Untersuchung des Wassers und der Luft für Brauereizwecke (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen Bd. XIII, p. 4). — (S. 71)

106. **Heinzelmann, G.,** Versuche mit Weissbier-Reinzuchthefe (Zeitschrift f. Spiritusindustrie 1890, 7. Mai). — (S. 60)

107. **Heinzelmann, G.,** Ueber Anwendung von Flusssäure in der Melasse-Brennerei zu Unseburg (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1890, p. 247). — (S. 77)

108. **Ikuta, M.,** Die Saké Brauerei in Japan (Chemikerztg. 1890, No. 27, p. 439). — (S. 66)

109. **Jacquemin, G.,** Le bouquet des boissons fermentées (Compt. rend. de l'académie. Paris. t. CX, 1890, p. 1140). — (S. 64)

110. **Jacquemin, G.,** Préparation de certains éthers au moyen de la fermentation (Compt. rend. de l'académie. Paris. t. CXI, 1890, p. 56; auch: La Distillerie française no. 320). — (S. 65)

111. **Jago,** Die Hefe bei der Brodbereitung (The Brewer's Guardian 1890). — (S. 67)

112. **Jörgensen, A.,** Die Aufbewahrung der ausgewählten Heferasse (Allgem. Zeitschr. f. Bierbr. und Malzfabr. 1890, 12. Nov.). — (S. 70)

113. **Kayser, E.,** Études sur la fermentation du cidre (Ann. de l'Inst. Pasteur 1890, no. 6, p. 321). — (S. 61)

114. **Klaudi, J.,** und **A. Svoboda,** Analyse von Flaschenbier (Listy chem. Allgem. Brauer- und Hopfenzeitg. 1890 p. 2079). — (S. 66)

115. **Kokosinski, Ed.,** Application industrielle de la méthode Han-

SEN à la fermentation haute [dans le Nord de la France] (Station scientifique de Brasserie. Compt. rend. t. I, 1890, Novembre). — (S. 70)

116. **Kruis, K.,** Ueber die Wirkung von Fluorwasserstoffsäure auf die Vergährung von Branntweinmaischen (Oestr.-Ung. Brennerzeitg. Bd. XIV, 1890, p. 63). — (S. 78)

117. **Kulisch, P.,** Ueber den Rohrzuckergehalt der Apfelmoste (Landwirthsch. Jahrbücher Bd. XIX, 1890, p. 109). — (S. 63)

118. **Laer, H. v.,** Application industrielle de la méthode HANSEN à la fermentation haute [en Belgique] (Station scientifique de Brasserie. Compt. rend. t. I, 1890 Novembre). — (S. 70)

119. **Laurent, E.,** Études biologiques. I. Partie. Recherches physiologiques sur les levures (Ann. soc. belge de microsć. t. XIV, 1890). — (S. 54)

120. **Lindet,** Action de l'acide carbonique sur les produits de la fermentation (Bull. soc. chim. de Paris série III, t. II, no. 4 1889).

121. **Lindner, P.,** Welches sind die besten Hefenrassen zur Vergährung von Dickmaischen und welche eignen sich hervorragend zur Erzielung hoher Hefeausbeuten in der Presshefefabrikation? Mittheilung von Züchtungsresultaten von 37 Reinhefen (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1890; Ergänzungsheft p. 29). — (S. 50)

122. **Lindner, P.,** Bemerkungen zu JÖRGENSEN's Aufsatz über Sarcina (Wochenschr. f. Brauerei 1890, p. 1040). — (S. 72)

123. **Lindner, P.,** Ruft Sarcina im untergährigen Bier Krankheitserscheinungen hervor oder nicht? (Wochenschr. f. Brauerei 1890, p. 161). — (S. 71)

124. **Linossier, G.,** et **G. Roux,** Sur la fermentation alcoolique et la transformation de l'alcool en aldéhyde provoquées par le champignon du muguet (Bull. de la soc. chim. Paris, série III, t. IV, 1890, p. 697. Compt. rend. de l'académie. Paris. t. CX, 1890, p. 868). — (S. 79)

125. **Ludwig, F.,** Notiz über die Verbreiter der Alkoholgährung und des Schleimflusses der Eichen und verwandter Baumkrankheiten (Deutsche bot. Monatsschr. Bd. VIII, 1890, p. 91). — (S. 68)

126. **Mach, E.,** und **K. Portele,** Ueber die schwere Vergährbarkeit des Preisselbeersaftes (Landw. Versuchsst. Bd. XXXVIII, 1890, p. 69). — (S. 63)

127. **Maercker, M.,** Die technische und wissenschaftliche Entwicklung der Brennerei in den letzten fünfzehn Jahren. Vortrag. (Zeitschrift f. Spiritusindustrie 1890; Ergänzungsheft p. 20). — (S. 54)

128. **Maercker, M.,** Ueber den Werth der Fluorwasserstoffsäure und der Fluorverbindungen als Antiseptika in der Praxis (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1890, p. 217). — (S. 75)

129. **Mathews, Ch. G.,** Ueber die Bestimmung der Hefegährkraft durch Gährung unter Druck (The Brewer's Guardian 1890, no. 522). — (S. 67)

130. **Meessen, W.,** La Levure de Bière. Morphologie, Physiologie, Pathologie. Extrait de la Revue des Questions scientifiques. 8°. 71 pp. Bruxelles 1890, Polleunis et Centerick. — (S. 54)

131. **Morris, H.,** Ueber die Sterilisirung der Würze im Hopfenkessel (Transact. of the Laboratory Club, vol. III). — (S. 71)

132. **Petersen, A.,** Sarcina im Biere ohne irgend eine Krankheitserscheinung (Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1890, No. 1). — (S. 71)

133. **Raumer, Ed. v.,** Ueber das Verhalten verschiedener Hefearten gegenüber den Dextrinen des Honigs und des Kartoffelzuckers (Zeitschr. f. angew. Chemie 1890, p. 421). — (S. 63)

134. **Rietsch** und **Martinand,** Ueber die Wirkung verschiedener Zuchthefen auf den Wein (Progrès agricole et vinicole 1890, no. 13). — (S. 62)

135. **Rommier, A.,** Sur la diminution de la puissance fermentescible de la levure ellipsoïdale de vin, en présence des sels de cuivre (Compt. rend. de l'académie. Paris, t. CX, 1890, p. 536). — (S. 78)

136. **Rommier, A.,** Sur les bouquets des vins et des eaux-de-vie (Compt. rend. de l'académie. Paris, t. CX, 1890, p. 1039). — (S. 64)

137. **Rommier, A.,** Sur la préparation des levures de vin (Compt. rend. de l'académie. Paris, t. CX, 1890, p. 1341). — (S. 70)

138. **S., A.,** Zur Säuerung des Hefengutes (Zeitschr. f. Spiritusindustrie 1890, p. 225). — (S. 78)

139. **Sostegni, L.,** und **A. Sannino,** Ueber die Entstehung von Schwefelwasserstoff bei der Alkoholgährung (Staz. sperim. agr. ital. vol. XVIII, p. 437). — (S. 66)

140. **Soxhlet,** Das Effront'sche Fluorwasserstoffverfahren in der Branntweinbrennerei (Zeitschr. des landw. Vereins in Bayern 1890,). — (S. 78).

141. **Zeidler, A.,** Beiträge zur Kenntniss einiger in Würze und Bier vorkommender Bakterien (Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 47). — (S. 72)

Vergl. hierzu auch ganz besonders die Arbeiten von Fischer (p. 34), Foth (p. 44), Hansen (p. 37 und 41), Neumayer (p. 34).

Zusammenfassende Darstellungen:

Nachdem **Hansen** (103) erst 1888 die erste Auflage dieser Untersuchungen publicirt hatte, welche den direkter praktischer Anwendung fähigen Theil seiner Arbeiten zusammenfassen sollten, während seine theoretischen Arbeiten als Untersuchungen über die Physiologie und Morphologie der Alkoholgährungspilze herausgegeben werden, liegt jetzt schon eine zweite Auflage vor; schon dadurch wird bewiesen, wie reizvoll es für einen grossen Kreis von Lesern aus den verschiedensten Zweigen der Wissenschaft und Praxis ist, hier zu sehen, aus welchen Anfängen sich Hansen's Verfahren, welches mit für ein Resultat wissenschaftlicher Arbeit so seltener Geschwindigkeit und in so seltenem Masse in die Praxis übertragen wurde, entwickelt hat und welche Schwierigkeiten der allgemeinen Einführung des Verfahrens entgegengestellt wurden.

Hansen theilt mit, wie er erkannte, dass Krankheiten des Bieres nicht nur durch Bakterien, wie Pasteur meinte, sondern auch durch Hefearten verursacht werden und dass desshalb Pasteur's Verfahren, die Brauereihefe durch Zusatz von Weinsäure zu reinigen, nicht zum Ziele führen kann, weil dadurch die Krankheitshefen in ihrer Entwicklung sogar begünstigt werden; Hansen bildete deshalb dann seine bekannten Hefereinkulturverfahren aus. Für die Einführung der reinen Hefe in die Praxis ist es von historischer Bedeutung, dass Hansen den Besitzer der Brauerei Alt-Carlsberg, Jacobsen, dadurch gewann, dass er durch sein Verfahren die Tuborg-Brauerei bei Kopenhagen, die zwei Jahre hindurch mit Hefetrübung kämpfte, schnell in Ordnung brachte und dann zeigte, dass der in dem Carlsberger Biere auftretende unangenehme Geruch und Geschmack durch Saccharomyces Pastorianus I verursacht werde. Von Carlsberg aus verbreitete sich der Gebrauch der reinen Hefe nun in alle Welttheile, zunächst in die untergährigen Brauereien und für diese erkennen auch die meisten Gegner Hansen's die grundlegende Bedeutung seines Verfahrens jetzt an; letzteres gilt noch nicht für die obergährigen Brauereien, aber auch hier beweisen, wie Verf. anführt, die neueren Versuche mehr und mehr die Möglichkeit und Bedeutung der Einführung reiner Hefe. Bei Besprechung der Vorsichtsmassregeln, die bei Einführung der reinen Hefe in Brauereien, die bisher noch nicht damit gearbeitet haben, zu beachten sind, erwähnt Hansen auch, dass er Verwendung von Mischungen mehrerer reiner Hefen, die ja neuerdings mehrfach empfohlen sind, nicht anrathen könne, da das Ideal jeder Fabrikation sei, so einfach und sicher wie möglich zu arbeiten. Er wendet sich dann zur fabrikmässigen

Darstellung reiner Hefen. Als Aufbewahrungsflüssigkeit für reine Hefen empfiehlt er reine 10% Rohrzuckerlösung, da die Hefe in Bierwürze sich gelegentlich nicht ein Jahr lebend erhält. In sterilisirtem Filtrirpapier bleibt Hefe mindestens 5 Monate am Leben. Es folgt dann die eingehende Besprechung des Baues und der Behandlung der Apparate zur Vermehrung reiner Hefe in der Praxis und der Vorrichtungen zur Versendung reiner Hefe und den Schluss des Buches bildet ein Abschnitt über die praktische Untersuchung des Bieres in den Lagerfässern rücksichtlich seiner Haltbarkeit. Vorher aber behandelt Hansen unter der Ueberschrift: Beobachtungen über Brauereihefearten dann die von ihm als zur Charakterisirung der Saccharomyces-Arten verwendbar bezeichneten Merkmale, wobei hervorzuheben ist, dass Hansen in dem auch bei derselben Art unter verschiedenen Bedingungen wechselndem Bau der Sporen und andererseits in der Keimung derselben Differenzen fand, die zur Unterscheidung der Hefearten verwendbar erscheinen und worüber er noch Ausführlicheres publiciren wird. Er erwähnt dann seine exakten, negative Resultate gebenden Versuche über die wechselseitige Umzüchtbarkeit der Oberhefe in Unterhefe und giebt dann eine Uebersicht über die Charaktere der genauer bekannten praktisch verwendeten Unterhefearten, wobei er für später eine von so berufener Seite gewiss sehr wünschenswerthe Systematik der Saccharomyceten in Aussicht stellt. Von ganz hervorragendem und allgemeinem wissenschaftlichem Interesse sind die Resultate, die Hansen bezüglich der Möglichkeit der Züchtung neuer Hefevarietäten erhielt und die in dem vorliegenden Buche zusammengefasst werden; nachdem er früher Varietäten erzog, die nach einiger Zeit aber wieder die Eigenschaften der Stammform annahmen, gelang ihm jetzt die Züchtung solcher mit bis jetzt durch mehrere Jahre unter verschiedenen Bedingungen konstanten Eigenschaften (vergl. p. 37 dieses Berichtes). Er weist mit Recht darauf hin, dass diese Untersuchungen auch eine praktische Bedeutung versprechen und dass man auch hier zu der in Gärtnerei und Landwirthschaft längst bekannten Varietätenzüchtung gelangen wird, nur, weil es sich um einzellige Organismen handelt mit tieferem Verständniss der einschlägigen Faktoren.

Weitere Einzelheiten brauchen wir einmal deshalb hier nicht zu referiren, weil der grösste Theil der in diesem Buche zusammengefassten Resultate anderwärts bereits publicirt wurde und andererseits deshalb, weil wir doch dem grossen Leserkreise, der aus wissenschaftlichem und praktischem Interesse Hansen's Arbeiten fortgesetzt mit Spannung folgt, warm empfehlen möchten, das in Rede stehende Buch selbst zu lesen, denn es leuchtet auch aus diesem Werke des Verf. hervor, dass derselbe bei aller Hingebung an die praktische

Bedeutung seiner Arbeiten doch die mit den neuesten Fortschritten Anderer rechnende wissenschaftliche Fragestellung nie vergisst.

Meessen (130) bespricht in einer für den Nichtfachmann bestimmten und von Einzelheiten abgesehen die neuesten Forschungen im Ganzen gebührend berücksichtigenden Weise nach einer gründlichen historischen Einleitung die generatio aequivoca, die verschiedenen Arten der Hefe, ihre Morphologie und Physiologie, Verhalten gegen das Nährsubstrat, gegen Sauerstoff, dann die Krankheiten des Bieres, die für die Brauerei in Betracht kommenden Antiseptika und die Hefereinzucht.

Maercker (127) giebt hier eine Uebersicht der grossentheils im Dienste der Spiritusindustrie angestellten Untersuchungen über die günstigste Temperatur für Herstellung einer sterilen, pilzfreien Maische ohne Schädigung der Diastasewirkung und für die wichtige Milchsäuregährung in der mit der Hefe versetzten Gährflüssigkeit, dann über Hayduck's Versuche über die Hefeernährung, die hohe Gährkraft und schwache Vermehrung stickstoffreicher und die umgekehrten Eigenschaften stickstoffarmer Hefe, die Abhängigkeit der Hefevermehrung vom Alkoholgehalt der Flüssigkeit und der Temperatur und die Nutzbarmachung dieser Resultate für die Praxis.

Ueber Physiologie der Hefen handeln:

Laurent (119). Nach einer sehr eingehenden Zusammenstellung der früheren Arbeiten über Hefeernährung wendet sich Verf. zu seinen eigenen Resultaten über diesen Gegenstand, wobei er besonders darauf achtete, ob die Hefe auf Kosten eines bestimmten Nährstoffes Glykogen bildete oder nur ihre Körpersubstanz aufbaute. Als Nährlösung verwandte er eine Lösung, die auf ein Liter Wasser enthielt 0,75 g phosphors. Kali, 5 g phosphors. oder schwefels. Ammon, 0,1 g schwefels. Magnesia, 1 g Weinsäure und z. B. 50 g Zucker; dieses kalkfreie Gemisch hat zum Unterschied von dem Mayer'schen den Vorzug, keinen unlöslichen Niederschlag zu geben und kann, wenn man die Weinsäure weglässt und die Lösung aufs Vierfache verdünnt, auch zu Bakterienkulturen verwendet werden. Für die Glykogenbildung erwiesen sich Gelatinenährböden viel günstiger als Flüssigkeiten; man wähle dazu aber eine Gelatinesorte, auf welcher Hefe in sehr kleinen, glykogenfreien, verästelten Colonien wächst. Vorsicht ist beim Glykogennachweis deshalb geboten, weil Hefen, Bakterien, Cladosporium auch bei Abwesenheit von Glykogen manchmal durch Jod braun gefärbt werden. Schlecht nährende Substanzen werden in unschädlicher Verdünnung manchmal schädlich für Hefe, wenn Gelatine zugesetzt wird, weil die Wirkung des Imbibitionsvermögens der Gelatine sich zu der

osmotischen Kraft der Salzlösung addirt. Die beschriebenen Versuche muss man, besonders wenn es sich um schlecht nährende Substanzen handelt, lange Zeit (z. B. 3 Monate bei Zimmertemperatur) gehen lassen. Die vom Verf. mit sehr zahlreichen Körpern ausgeführten Versuche ergaben, dass einatomige Alkohole für Hefe schädlich wirken, mehratomige aber günstiger sind, Glycerin ist sogar für sehr verschiedene Organismen ein sehr guter Nährstoff, was nicht überraschen kann, wenn man seine Constitutionsformel mit der der Glykosen vergleicht. Aether und Aldehyde sind schädlich für Hefe. Von organischen Säuren und deren Salzen nährt Ameisensäure nicht. Essigsaure Salze nähren, propionsaure, buttersaure, valeriansaure sind schädlich, vielleicht weil sie meist in Pflanzensäften, dem natürlichen Nährboden der Hefen fehlen, wo essigsaure Salze vorhanden sind. Milchsaure Salze sind sehr gute Nährstoffe; da Milchsäure eine polymere Verbindung der Glykosen ist, kann das Hefenplasma ein Molekül Zucker aus zwei Molekülen Milchsäure durch einfache Synthese bilden. Oxalsäure ist kein Nährstoff, dagegen Malonsäure, Bernsteinsäure, Brenzweinsäure und deren Salze, ferner glycerinsaure, äpfelsaure, weinsaure, citronensaure Salze; rechtsweinsaure Salze sind günstiger als linksweinsaure.

Was die Kohlehydrate anbelangt, so sind Glykose, Lävulose, Rohrzucker und Maltose sehr günstig auch für die Glykogenbildung, ebenso wie Milchzucker, auf dessen Kosten das Wachsthum sehr langsam geht. Inosit ist ungünstig für Hefe. Stärkekleister wird von Hefe durch Diastase in kleiner Menge gelöst. Glykogen wird auch aufgenommen und zur Glykogenbildung verwendet. Arabisches Gummi wird von Hefe assimilirt, Dextrine ebenso, letztere werden aber nicht vergohren. Amine und Amide werden mit Ausnahme der alkalisch reagirenden von der Hefe verwendet. Aromatische Körper können weder von Hefe noch von den meisten Bakterien assimilirt werden. Glykoside sind dagegen günstige Nährstoffe, ihr aromatischer Bestandtheil spielt dabei aber keine Rolle. Von den Alkaloïden, die nach Marcaci anregend auf die Alkoholgährung wirken, können Colchicin und schwefelsaures Atropin merkwürdiger Weise als Nährstoffe für Hefe dienen. Eiweiss wird auch zur Glykogenbildung verwendet; nach Verf. erklärt sich dies aus dem Vorhandensein eines zuckerartigen Körpers im Eiweissmolekül; auch die stickstoffhaltige Gruppe in letzterem (Asparagin, Glutamin) kann aber zur Glykogenbildung verwendet werden.

Die Hefen können also viel mehr Körper assimiliren und zur Reservestoffbildung benutzen, wie andere Organismen. Sie produciren zu dem Zwecke an Fermenten ausser Invertin Diastase, Pepsin und Glykoside spaltende Körper.

Aus allen oben genannten assimilirbaren Körpern mit alleiniger Ausnahme der Zuckerarten bildet aber die Hefe keinen Alkohol, verliert aber trotzdem durch Aufenthalt in Lösungen dieser Körper ihr Gährvermögen nicht. Morphologisch veränderte sich dagegen die Hefe in solchen Lösungen etwas, bildet z. B. etwas kleinere Zellen. In den nicht vergährbaren Lösungen konnte die Hefe nur dann sich wesentlich vermehren, wenn Sauerstoff zugegen war.

Verf. prüfte dann die Wirkung einer Anzahl organischer Säuren auf die Hefenvermehrung und fand, dass dieselbe nicht verhindert wurde durch Zusatz von 1⁰/₀ Glycol-, Milch-, Bernstein-, Aepfel-, Wein- und Citronensäure zu neutralisirter Bierwürze, wohl aber durch andere Säuren. Erstere Säuren sind auch in höherer Concentration weniger schädlich als letztere. Von Milchsäure werden z. B. 3⁰/₀ noch ertragen, 3,5⁰/₀ aber nicht mehr. Versuche über die Alkoholmenge, welche die Hefevermehrung resp. Gährung verhindert, zeigten, dass die verwendeten Bier- und Weinhefen succesive an höheren Alkoholgehalt der Flüssigkeit gewöhnt werden können. Die höchste Alkoholmenge, bei der Hefevermehrung möglich ist, beträgt 10-12⁰/₀.

Der Verf. wendet sich dann zur Untersuchung des Verhaltens der Hefen gegen concentrirte Zuckerlösungen. Lösungen von 10-15⁰/₀ Rohrzucker, Invertzucker und Glykose sind am günstigsten für Gährung und Glykogenbildung; in Lösungen von 60⁰/₀ dieser Zuckerarten wächst die Hefe nicht mehr. In 30procentigen und stärkeren Lösungen wirkt auch das Invertin nicht mehr ordentlich und eine bedeutende Menge Rohrzucker bleibt erhalten, vielleicht weil der Invertzucker sich zu sehr anhäuft. Maltoselösungen von 10-25⁰/₀ ergeben kräftiges Hefewachsthum und intensive Gährung, solche von 60⁰/₀ nicht mehr. Die Hefe verhält sich also gegen alle diese Zuckerarten annähernd gleich, trotzdem deren osmotische Kraft verschieden, nämlich umgekehrt proportional ihrem Atomgewicht ist. Es ist dies indessen nur eine scheinbare Ausnahme von dem Gesetz der isotonischen Coefficienten, die sich einfach dadurch erklärt, dass in den 10-15procentigen Lösungen die schnell wachsende Hefe den Rohrzucker schnell invertirt. Daraus, dass Hefe in 10-25procentigen Maltoselösungen gleich gut wächst, folgert Verf., dass Maltose vor dem Eintritt in die Hefezelle nicht in Glykose umgewandelt wird, was auch Em. Bourquelot aus ganz anderen Gründen geschlossen hat.

Verf. berechnet, dass der osmotische Druck in Hefezellen, die in 55procentiger Glykoselösung vegetiren, 60 Atmosphären beträgt, ein Druck, der mit Hülfe von organischen Stoffen und Salzen im Zellsaft erzielt wird. Ungefähr 12 Atmosphären werden durch Glykose erhalten, die bis zu einer Concentration von 12⁰/₀ in den Zellen vorhanden ist;

weiter kommen hier die Hefeproducte Glycerin und Bernsteinsäure in Betracht. Hefe ist aber ausserdem im Stande, Salze, wie Kalisalpeter, aufzunehmen und so einen weit höheren osmotischen Druck zu erzeugen. In Salzlösungen höherer Concentration wächst gewöhnlich Hefe langsam, sie gewöhnt sich aber an dieselben; diese Gewöhnung befähigt sie aber nicht, in allen Lösungen zu wachsen, welche isotonische Quantitäten verschiedener Salze enthalten, sondern die Gewöhnung bezieht sich nur auf eine bestimmte Base. Diese Gewöhnungsfähigkeit der Hefe hat jedenfalls zur Erziehung der unzähligen Brauereirassen geführt.

Die Menge des in den Hefezellen abgelagerten Glykogens findet Verf. auf drei Wegen, erstens indem er das Glykogen durch eine die Membranen nicht angreifende Säure in Zucker überführt und letzteren bestimmt, zweitens indem er die Hefe wiegt, sie durch Selbstgährung von Reservestoffen befreit und zurückwiegt, drittens indem er den bei der Selbstgährung entstandenen Alkohol bestimmt. Die auf diesen drei Wegen erhaltenen nur angenähert richtigen Resultate werden dann verglichen. Die Glykogenbildung bedingt theilweise ein Schwanken des Hefegewichtes während der Gährung; zuerst steigt das Hefegewicht schnell in Folge des Hefewachsthums, dann langsam wohl grösstentheils wegen Glykogenbildung; gegen Schluss der Gährung sinkt das Hefegewicht wieder. Nach den Versuchen des Verf. enthielt die Hefe im besten Falle $20^0/_0$ des Trockengewichtes an Glykogen und ungefähr $12^0/_0$ Glykose im Innern der Zellen. Letztere wurde bestimmt, indem die Hefe in Wasser 10 Minuten bei 100^0 gehalten und so getödtet wurde, worauf die Glykose ausgewaschen und bestimmt wurde. Die im Zellsaft gefundene Glykosemenge entspricht also ungefähr der günstigsten Concentration der Zuckernährlösungen. Vergleichsweise fand man an Glykogen in der Leber der Schleie bis zu 15,6, im Plasma von Fuligo varians 4,7, in Clitocybe nebularis $8^0/_0$ der Trockensubstanz.

Glykogen fand Verf. ausser bei der hauptsächlich untersuchten Brüsseler Oberhefe auch bei den sonst beobachteten vielen Bier-, Wein-, Apfelwein-, Honigwasserhefen, bei den auf zuckerhaltigen Früchten beobachteten Hefen und hefeartigen Sprosspilzen, auch den rothen aus der Luft, bei Saccharomyces Mycoderma, Oidium lactis, den hefeartigen Sprossvegetationen von Cladosporium herbarum (Dematium pullulans), Ustilago carbo, olivacea, antherarum, der Milchzuckerhefe und der Mycolevure von Duclaux. Hervorzuheben ist, dass Cladosporium durch dieselben oben erwähnten Stoffe ernährt werden kann wie die Brüsseler Oberhefe.

Vergleichende Versuche zeigten, dass die Hefe die Ammoniaksalze den salpetersauren entschieden vorzieht. Nitrite sind giftig, wenn in sauren Lösungen salpetrige Säure frei gemacht wird. Verf. findet auch,

dass die untersuchten Hefen Nitrate zu Nitriten thatsächlich reduziren und glaubt, dass sie vielleicht wegen der Gefahr dieser Giftproduktion gelernt haben Ammoniaksalze vorzuziehen. Ausserdem entfärben Hefen auch Indigcarmin durch Reduktion; dies scheint aber auch bei Gegenwart abgetödteter Hefe vor sich zu gehen und deshalb vielleicht keine physiologische Wirkung, sondern eine Eigenschaft organischer Körper zu sein.

Brown (94) verfolgte durch Zählung auf bekannte Weise das Wachsthum einer Oberhefe vom Burton-Typus; bisherige derartige Untersuchungen bezogen sich nur auf Unterhefe.

Aus mit gehopfter Alewürze in durch Watte verschlossenen, bei 20° gehaltenen Flaschen angestellten Versuchen geht hervor, dass in Würzen, die ein spez. Gewicht von 1,06 überschreiten, die Intensität der Hefevermehrung die gleiche ist; in Würzen von einem unter 1,06 liegenden spez. Gewichte steht die Anzahl der neugebildeten Hefezellen nicht im direkten Verhältniss zum spez. Gewicht der Würze, sondern in einem höheren. Aus verschiedenem Rohmaterial hergestellte Würzen unterscheiden sich hinsichtlich der Hefevermehrung wesentlich.

Weiter wurden der Einfluss verschiedener Mengen von Kohlehydraten und Stickstoffnahrung auf die Hefevermehrung geprüft in der Weise, dass einerseits zu derselben Menge Hefenwasser verschiedene Mengen reiner Dextrose gesetzt, andererseits verschieden konzentrirtes Hefenwasser oder Asparagin oder Fleischpepton nebst Zucker in reinem Wasser gelöst als Nährlösung verwendet wurden. Dass indessen Asparagin und Fleischpepton keine gute Hefevermehrung bewirkten, braucht nicht daher zu rühren, dass diese Körper ungünstige Nährstoffe sind, sondern kann daran liegen, dass Verf. keine Aschensalze zusetzte. Es zeigte sich, dass Erhöhung der Menge der Nährstoffe über eine gewisse Grenze hinaus die Intensität der Hefevermehrung nicht weiter erhöht; diese Grenze lag für Zucker bei $5^0/_0$. Unter dieser Grenze steht die Hefevermehrung nicht im direkten Verhältniss zur wachsenden Menge von Kohlehydrat oder Stickstoffnahrung, sondern in einem höheren.

Die Stärke der Hefeaussaat hat nach Verf. keinen Einfluss auf die Anzahl der neugebildeten Zellen. In verschiedenen Mengen der Gährflüssigkeit ging die Hefevermehrung mit derselben Intensität vor sich, sodass die Anzahl der gebildeten Hefezellen im direkten Verhältniss zum Flüssigkeitsvolum stand. Schliesslich wurden die Stadien der Hefevermehrung mit denen der Gährung verglichen und die landläufige Ansicht, die Hefezellen spalteten den Zucker vorzugsweise in einer späteren Periode ihres Wachsthums oder wenn dieses vorüber ist, nicht richtig befunden. Die Hefezellen leisten in einer frühen Wachs-

thumsperiode viel mehr Gährarbeit als später. Dasselbe Resultat lässt sich auch aus einem zu anderen Zwecken mit Unterhefe angestellten Versuche HANSEN's folgern. Die Gährung dauert aber noch lange fort, nachdem die Hefevermehrung aufgehört hat. (Nach Wochenschr. f. Brauerei 1890.) Hierzu bemerkt WINDISCH (in der Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 18), dass über dieselben Fragen, wie BROWN ausser FRANCKE und MOHR auch besonders HAYDUCK (Zeitschr. f. Spiritusind. 1881, p. 173, 1882, p. 183) schon ausführlich gearbeitet haben. HAYDUCK arbeitete auch mit Oberhefe, nämlich Presshefe und kam hinsichtlich des Einflusses der Stickstoffnahrung auf die Hefevermehrung und des Fortdauerns der Gährung nach Einstellung des Hefewachsthums zu denselben Resultaten wie BROWN. Letzterem wird vorgeworfen, dass er den Einfluss des Alkohols auf die Hefevermehrung ausser Acht gelassen habe.

Delbrück (96) macht Mittheilung über Versuche betreffend den Einfluss der Lüftung auf Hefe und Gährung, die angeregt durch solche Versuche in der Praxis im Vereinslaboratorium der Spiritusfabrikanten ausgeführt wurden. Es wurde 8prozentige Würze aus bei niedriger Temperatur gedarrtem Malz mit Presshefe besäet und während der 8 Stunden dauernden Gährung gelüftet und das doppelte oder dreifache der Ausbeute der Presshefepraxis, nämlich 30 Pfund Hefe auf 100 Pfund Malz gewonnen. Weitere Versuche zeigten aber, dass auch ohne Lüftung schon in Malzwürze mehr Hefe wächst als in der in der Presshefefabrikation verwendeten treberhaltigen Maische, nämlich 20-23 Theile Hefe auf 100 Theile Malz. Jedenfalls hat die Lüftung aber auch einen günstigen Einfluss und zwar genügt es, 4 Stunden zu lüften, erheblich längere Lüftung schadet sogar. Die Hefeproduktion variirt auch etwas mit der Stärke der Aussaat und zwar wurde gefunden, dass 1 g Presshefe auf 100 ccm Würze die günstigste Aussaatmenge ist.

Bei Prüfung des Einflusses der Lüftung auf verschiedene Heferassen hat sich das merkwürdige, aber noch eingehender zu prüfende Resultat ergeben, dass die ohne Lüftung die besten Hefeernten gebenden Rassen dies bei Lüftung nicht mehr thun.

Die erwähnten hohen Ausbeuten wurden nicht erzielt mit Heferassen aus gekochter und gehopfter Bierwürze, die in die genannte gelüftete Dickmaische übertragen wurden, vielleicht weil die durch Kochen von allen coagulirbaren Eiweissstoffen befreite Würze schlecht nährt. Die Ernten schwankten zwischen 14-25 Theilen Hefe auf 100 Theile Malz, also ziemlich erheblich, bei verschiedenen Rassen.

Weiter wurde gefunden, dass die unter Lüftung erzogene Hefe an Gährkraft gegenüber der ungelüfteten etwas eingebüsst hat und

wie Verf. für wahrscheinlich hält deshalb, weil das Nährmaterial an Stickstoff oder Eiweissstoffen hier auf mehr Hefezellen vertheilt ist, die einzelne Zelle also ärmer daran ist.

Im Anschluss an die erwähnten Versuche wurden solche über den Einfluss der Lüftung auf die Gährung von Dickmaischen angestellt. Vor einigen Jahren hatte das Vereinslaboratorium gefunden, dass in Rohrzuckerlösungen in der Gährzeit, welche nach den Steuergesetzen innegehalten werden muss, 18 Procent Alkohol durch Gährung erzeugt werden können, in Maltoselösungen dagegen trotz fortgesetzter Versuche höchstens 14. Neuerdings wurden aber Versuche mit einer Maltoselösung, die bei vollständiger Vergährung der Maltose 16 Procent Alkohol geben musste, gemacht und dabei die in den Versuchsreihen von Lindner (s. diese S.) untersuchten Heferassen benutzt und gelüftet. Dabei wurde schliesslich durch Lüftung und mit Hülfe der Weissbierhefe, welche in Bierwürze die grösste Hefeernte ergeben hatte, thatsächlich eine Vergährung bis zu 16 Procent Alkohol erzielt. Eine stärkere Alkoholausbeute wurde überhaupt in den meisten Fällen durch Lüftung erzielt.

Demnach hält Verf. die Einführung der Lüftung und der reinen Hefe in die Brennereibetriebe für nothwendig und macht dazu eingehendere Bemerkungen.

Heinzelmann (106) benutzte reines Material einer Weissbierhefe, die in Maltoselösungen im Laboratorium 16 Vol.-Proc.-Alkohol gebildet hatte, zu einem Brennereiversuch mit Kartoffelmaische; aus dem vorhandenen Material liessen sich höchstens Maischen von 25,5° B. erzeugen, aus denen aber diese Weissbierhefe nur höchstens 11,2 Vol.-Proc.-Alkohol bilden konnte, während gewöhnliche Brennereihefe 12,2 Proc. erzeugte.

Delbrück (98) erwähnt hier eine aus Saaz stammende, wahrscheinlich auch zur Herstellung von schwach vergohrenem Wiener Abzugsbier benutzte Hefe, die sich durch eine auf keine Weise anzuregende Schwäche der Gährung und Vermehrung auszeichnet. Eine solche Hefe eignet sich zwar zur Herstellung schwach vergohrener Biere, aber da sie eine beträchtliche Menge Maltose übrig lässt, so ist solches Bier nicht so haltbar wie solches, welches mit stark vergährenden Hefen hergestellt wird.

Lindner (122) berichtet über zwei Versuchsreihen; in der ersten liess man 22 reine Brauereihefen 650 ccm gehopfte Würze von 11,95° Balling vergähren; die Hefeernten schwankten zwischen 4,3 und 12 g. Im Allgemeinen zeigen obergährige Hefen grosse Hefeproduktion. Mit zunehmender Hefeernte wird im Allgemeinen mehr Extrakt und mehr Stickstoff aus der Würze herausgenommen und mehr Säure gebildet, doch zeigten sich auch erhebliche Ausnahmen hiervon. In concentrirten Maltoselösungen lieferten dann im Allgemeinen diejenigen Hefen,

die in Bierwürze die grössten Hefeernten ergeben hatten, bei überall gleich starker Aussaat auch die grösste Alkoholausbeute, aber die Zahlen steigen nicht gleichmässig denn die höchste Alkoholausbeute gab eine Hefe mit mittlerem Erntegewicht.

Die zweite Versuchsreihe beschäftigte sich mit Brennereihefen, Presshefen und solchen aus obergährigen Brauereien. In 1350 ccm gehopfter Würze schwankten die Hefeernten von 9,3 bis 19,5 g. Die höchsten Ernten gaben Weissbierhefen, die Presshefen mittlere. Die grösste Gährungsenergie besassen im Allgemeinen die Presshefen, wenn auch in dieser Versuchsreihe eine Brennereihefe und eine Weissbierhefe in dieser Beziehung mit in erster Linie standen. Auch hier wurde desto mehr Extrakt vergohren, je mehr Hefe producirt wurde, während hier umgekehrt wie in der ersten Versuchsreihe die Hefen, welche die niedrigsten Ernten ergeben hatten, am stärksten die Maltoselösung vergohren.

Im Ganzen fand Verf. in der Hefeausbeute bei Presshefen eine Differenz von 9,6-16,3 g, bei Brennereihefen von 9,3-14,3 g, bei obergährigen Bierhefen von 11,8-19,5 g; die Alkoholausbeute schwankte bei den Presshefen zwischen 11,8-14,1 Vol.-Procent, während unter den Brennereihefen die die geringste Hefeernte gebenden die höchste Alkoholausbeute erzielten und unter den obergährigen Bierhefen eine Weissbierhefe die höchste überhaupt in beiden Versuchsreihen erzielte Alkoholausbeute von 15,2 Vol. Procent gab.

Kayser (113) untersucht zunächst chemisch die auf einer grossen Ausstellung prämiirten Apfelweine und isolirte dann aus denselben reine Hefen, um so zur Apfelweinbereitung besonders geeignete Hefen zu gewinnen. Um aus der grossen Zahl der Reinkulturen die die gleiche Rasse enthaltenden herauszufinden[1] besäte er damit Malzwürze, die im Liter 5-28 g Weinsäure enthielt und konnte nach der Verschiedenheit der Zeit, welche die verschiedenen Hefen brauchten um diese verschieden stark angesäuerten Würzen zu trüben, diese Hefen in vorläufige Gruppen bringen; dann kultivirte er sie zur Kräftigung in neutraler Flüssigkeit und brachte sie darauf in verschieden stark alkalische Lösungen. Nach dem Wachsthum in diesen, konnte er sie wiederum in Gruppen bringen und dann mit Grund annehmen, dass die nach den obenerwähnten und diesen letzten Versuchen sich beide Male in einer Gruppe findenden Formen identisch seien, zu derselben Rasse gehörten und kontrollirte dies Resultat durch makro- und mikroskopische Untersuchung der Kulturen. Schliesslich nahm er 11 so erhaltene und neu erscheinende Hefeformen in nähere Unter-

[1]) Vergl. Duclaux: Ann. de l'Inst. Pasteur t. III, p. 380.

suchung und fügte diesen eine Birnmosthefe, Saccharomyces apiculatus und DUCLAUX's Champagnerhefe zu. Von seinen neuen Formen bezeichnet er eine Oberhefe als S. mali DUCLAUX, eine Unterhefe als S. mali RISLER; erstere giebt dem Apfelwein viel Körper und Bouquet, letztere einen gleichmässigen Geschmack. Er studirt auch die zur Sporenbildung nöthige Zeit bei seinen Hefen und die Resistenz der vegetativen Zellen und Sporen im trocknen und feuchten Zustand gegen höhere Temperaturen[1]. Er glaubt nicht, dass die Sporenbildungszeit zur Beurtheilung der Reinheit eines Hefematerials dienen kann, weil die verschiedenen Zellen derselben Form zu ungleicher Zeit Sporen bilden.

Verf. untersucht dann auch seine Hefen in Bezug darauf, ob und wieviel Zucker sie bei der Gährung übrig lassen, ohne auf die Natur dieses Zuckers Rücksicht zu nehmen und kommt da zu bemerkenswerthen Differenzen. Die chemische Untersuchung der mit diesen reinen Hefen vergohrenen sterilisirten Apfelmoste lehrt merkliche Unterschiede in Bezug auf die Menge der nicht flüchtigen Säure (Bernsteinsäure) und der Essig- und Buttersäure, die von den einzelnen Hefen gebildet werden; daraus und aus der damit zusammenhängenden Esterbildung resultiren dann vor allen Dingen die Geschmacksunterschiede. Auch mit Mischungen von je 2 Hefen stellte Verf. Gährversuche an. Die Eingangs erwähnten, mit unreinen Hefen bereiteten Apfelweine zeigten mehr nicht flüchtige und weniger flüchtige Säure, als die in diesen Versuchen mit den reinen Hefen erhaltenen, wonach in ersteren eine der Alkoholgährung fremde Nebengährung stattgefunden haben dürfte. Verf. liess auch etwas grössere Mengen unsterilisirten, aber aus möglichst rein gewaschenen Aepfeln hergestellten Mostes durch seine Hefen vergähren, um den Geschmack des Produktes zu prüfen. Aus den Resultaten sei erwähnt, dass S. apiculatus einen angenehm riechenden, guten Apfelwein liefert, auch ziemlich viel Zucker darin lässt. Doch muss diese Hefeform in beträchtlicher Menge zugesetzt werden, da sie langsam wächst und sonst leicht von wilden Hefen überwuchert wird. Im Allgemeinen gaben die verschiedenen vom Verf. untersuchten Hefen theils sehr gute, theils sehr schlechte Apfelweine.

Rietsch und **Martinand** (134). Most wurde in Algier theils der spontanen Gährung überlassen, theils mit Hefe aus Burgund und Beaujolais versetzt und andererseits Most aus dem Jura mit Hefe aus Marseille vergohren. Es zeigte sich, dass die Hefe Einfluss auf Geschmack und Farbe des Weines sowie auf den Gährungsverlauf hat, dagegen war keine Verbesserung der Blume durch die zugesetzten

---

[1]) Vergl. KAYSER: Ann. de l'Inst. PASTEUR t. III, p. 513.

Hefearten zu konstatiren. Aus den Analysenresultaten sei nur Folgendes erwähnt: Algiermost ergab an

	Ohne Hefezusatz:	Mit Burgunderhefe:	Mit Beaujolaishefe:
Alkohol Vol. Proz.	12,8	12,7	12,6
Reduc. Zucker	9,61	1,00	1,15
Glycerin	3,45	4,45	6,62
Bernsteinsäure	0,89	1,02	1,31

(Nach Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 41.)

Kulisch (117) weist in Mosten aus einer Reihe von 11 Apfelsorten durch Zunahme der Linksdrehung und des Reduktionsvermögens nach der Inversion Rohrzucker nach, den er auch in Krystallen abscheidet. Die während der Gährung schnell und schon lange vor der Beendigung derselben völlig verschwindende Rohrzuckermenge beträgt in 100 ccm der Moste 1,28-5,46 g oder 14,6-76,6% der direkt reduzirenden Substanz.

Gayon und **Dubourg** (100). Bei der Alkoholgährung des Invertzuckers durch gewöhnliche Hefe wird die Linksdrehung zuerst stärker und geht dann auf Null zurück, weil zuerst die Glykose stärker angegriffen wird, als die Lävulose. Die meisten aus industriellen Hefen rein kultivirten Arten verhalten sich ebenso. Die die Beziehung zwischen der Drehung und der vergohrenen Zuckermenge darstellende für jede Hefeart constante Curve hat parabolische Form.

Es giebt aber andere Hefearten, die umgekehrt die Lävulose schneller als die Glykose vergähren und es geht deshalb in diesen Fällen die Linksdrehung der Flüssigkeit in Rechtsdrehung über und wird dann Null. Die entsprechenden Curven für diese Formen sind ebenfalls Parabeln, haben aber entgegengesetzte Krümmungen, wie die vorhin erwähnten.

Raumer (133) liess mit Hefewasser als Nährlösung versetzten Honig durch Wein-, Bier- und Presshefe vergähren und zeigt, dass Weinhefe die Dextrine des Honigs kaum angreift, während Presshefe dieselben leicht und in beträchtlicher Menge vergährt und Bierhefe in der Mitte steht; hierdurch erklärt sich die Verschiedenheit früherer Angaben über die Rechtsdrehung derEoniggährprodukte. Aber selbst mit Presshefe war keine völlige Vergährung zu erzielen und Verf. hält aus chemischen Gründen und weil alle Alkoholgährungspilze Dextrose vergähren, den unvergohrenen Rest für Dextrine. Bei einigen mit Kartoffelzucker vergohrenen Weinen fand Verf., dass Presshefe in denselben die Dextrine völlig vergohren hatte. (Nach Chem. Centralblatt 1890.)

Mach und **Portele** (126) überzeugen sich zunächst, dass Preissel-

beersaft (Vaccinium Vidis Idaea) mit frischer Weinhefe gemischt lange Zeit nicht gährt und die Gährung von Traubenmost, der für sich nach 24 Stunden gährt, verzögert oder wenn beide zu gleichen Raumtheilen gemischt werden lange Zeit verhindert. Die Gährung des Preisselbeersaftes wird auch nicht durch Zusatz von phosphorsaurem Ammon oder eiweissreichen Stoffen oder durch theilweises Neutralisiren ermöglicht. Auf Grund einer vergessenen Angabe von O. Löw, dass die Preisselbeeren Benzoesäure enthalten, finden die Verf. 0,638 g Benzoesäure im Liter Preisselbeersaft und halten diese Säure für die Ursache der schweren Vergährbarkeit dieses Saftes.

Diese Menge Benzoesäure vermag bei der gegenüber Salicylsäure geringeren gährungshemmenden Wirkung dieser Säure die Gährung des Preisselbeersaftes bei warmer Zimmertemperatur nicht vollkommen auf die Dauer zu verhindern. Ein Zusatz von 50 g Salicylsäure zu 1 Hektoliter Wein oder Most verhindert Gährung, Essig- und Kahmbildung, von Benzoesäure ist die 2-6fache Menge erforderlich.

Rommier (136). Die früher[1] von Rommier gemachten Angaben, wonach verschiedene Weinhefesorten dem Weine verschiedenen Geschmack verleihen, wurden durch Versuche von Martinand bestätigt, der Weinmost mit Hefe aus spontan gährendem Kirschsaft oder Weinhefe aus verschiedenen Weinsorten vergähren liess. Auch bestätigen Martinand und Rietsch die Angaben des Verf., dass man hierbei die Moste nicht von den spontan auf den Beeren vorkommenden Hefen zu befreien braucht. Aehnliche Versuche sind mit dem gleichen Erfolge angestellt mit Apfelweinhefe und Bierhefe, welche verschieden schmeckende Gährproducte aus Apfelmost lieferten (Bull. de la soc. des agriculteurs de France 1890 no. 9, p. 304). Neue Versuche des Verf. zeigen, dass aus mit Aschensalzen versetzten Zuckerlösungen, die durch vier verschiedene Hefen in Gährung versetzt wurden, Alkohole mit verschiedenem Geruch erhalten wurden. Verf. glaubt, dass aus den verschiedenen Fetten, die sich in den verschiedenen Hefesorten auf Kosten des Zuckers bilden, die Säuren theilweise frei werden, während das Glycerin an die Gährflüssigkeit abgegeben wird, und dass diese Säuren mit dem entstehenden Alkohol Ester bilden, die dem Alkohol den verschiedenen Geruch verleihen. Ausserdem enthalten die Gährprodukte ätherische Substanzen aus den Pflanzensäften, die zum Unterschiede von jenen Estern weniger flüchtig sind und deren Geruch daher selbst nach Verdunstung des Alkohols mehr oder minder persistirt.

Jacquemin (109) setzte seine früheren Versuche fort und wies nach, dass nach Zusatz verschiedener Weinhefesorten zur Würze der

---

[1]) Compt. rend. Paris. t. CVIII, 1889, p. 1322.

Gerstenwein oder Rosinenwein den spezifischen Geschmack des Weines, aus dem die Hefe stammt, annimmt. In derselben Weise haben sich auch Marx und Rommier (vorstehendes Ref.) in Bezug auf den Wein geäussert und vorgeschlagen, geringere Sorten durch gute Hefearten zu verbessern.

Weiter machte Verf. neuerdings noch folgende bemerkenswerthe Beobachtung über die Bouquetbildung durch Hefe. Wenn man reine Hefe längere Zeit aufbewahren will, so kultivirt man sie nach Pasteur successive mehrmals in reiner, wässeriger Zuckerlösung und führt sie so in einen latenten Zustand über, in dem sie keine Gährung mehr ausübt und aus dem sie durch Kultur in Würze, welche die übrigen nothwendigen Nährstoffe enthält, wieder erweckt wird. Verf. fand nun, dass die Hefe im Verlaufe der successiven Kultur in reiner Zuckerlösung zu der Zeit, wo sie eben noch ganz schwache Gährwirkung ausübt, doch noch ihr je nach der Weinsorte verschiedenes und sehr charakteristisches Bouquet sehr stark entwickelt und er schlägt vor, durch Zusatz von Destillationsspiritus zu solchen Bouquetlösungen Getränke herzustellen oder die Bouquetlösung dem Weinmost zur Verbesserung des Weines zuzusetzen. Der Verf. fand weiter, dass auch mit Apfelweinhefe vergohrener Gerstenwein den charakteristischen Apfelweingeschmack hat und glaubt, dass dieses Produkt den Apfelwein oft ersetzen kann, den es vermöge seines höheren Extraktgehaltes an Nährwerth übertrifft.

Jacquemin (110). Aus einer mit Hülfe von Käse in Milchsäuregährung versetzten Kultur, worin sich dann die von Pasteur beschriebene Milchhefe (?), Saccharomyces und Pasteur's Buttersäurebacillen befanden, wurden zwei Portionen mit kohlensaurem Kalk versetzter und sterilisirter Würze geimpft. Die eine, bei Luftzutritt gehaltene Kultur zeigte nur Milchsäuregährung, die andere, bei Luftabschluss gehaltene besass nach einigen Tagen aetherartigen Geruch und enthielt ziemlich reichlich Buttersäureäther, Aethylalkohol und höhere Alkohole sowie buttersauren und Spuren von milchsaurem Kalk. Verf. glaubt, dass die anaërobiotischen Buttersäurebacillen Buttersäure, die Saccharomyces Alkohol bildeten und beide Körper in statu nascendi zu Buttersäureaethylaether zusammentraten. Mehr Beweiskraft besitzt ein anderer reinlicherer Versuch des Verf., in dem er sterile Würze mit Pasteur's reinen Milchsäurebakterien und nach acht Tagen mit reinem Saccharomyces ellipsoideus impfte. Es entstand Milchsäureaethylaether.

Haas (101) hat in mehreren Fällen beobachtet, dass durch Vergährung von in Flaschen gefüllten Mosten erzeugter Wein schweflige Säure enthielt, die nur durch Reduktion von Sulfaten entstanden sein kann; die Moste enthielten in allen Fällen keine schweflige Säure;

z. B. wurde in eine 8,5 Liter haltende Flasche 2,5 Liter Most von 213 g Traubenzucker im Liter gefüllt; das Gährprodukt enthielt 0,0494 g schweflige Säure und 30,3 g Zucker im Liter. Bildung von schwefliger Säure beobachtete Verf. auch bei Gährungen von Rohrzuckerlösungen, denen nur die nöthigen Nährsalze und Magnesiumsulfat zugesetzt waren. Dagegen wurde nie schweflige Säure bei reichlichem Hefezusatz gebildet. Demnach entsteht die Säure nur bei wenig intensiver Gährung, welche letztere dann durch die gebildete Säure noch mehr verlangsamt wird. (Vergl. PFEIFFER, Ueber das Vorkommen von schwefliger Säure im Biere: Wochenschr. f. Brauerei 1889, No. 34, p. 781.)

Klaudi und **Svoboda** (114) fanden bei Analyse von 20 Prager Flaschenbieren, dass die Menge der darin enthaltenen schwefligen Säure mit der Vergährung steigt. (Nach Chemikerztg. 1890, No. 36.)

Sostegni und **Sannino** (139). Seit man die Reben zum Schutze gegen Erysiphe (Oidium) mit Schwefelblumen bestreut und Schwefel auch anwendet, um aus von mit Kupfersalzen gegen Peronospora behandelten Reben erhaltenen Mosten das Kupfer zu fällen, entsteht während der Gährung Schwefelwasserstoff und zwar wie Verf. unter dem unrichtigen Hinweis auf Beggiatoa u. s. w. annehmen, unter dem Einfluss der Hefe. Sie finden, dass die Menge des Schwefelwasserstoffes sich mehr nach der Zuckermenge, wie nach der Schwefelmenge richtet. Berührung von Schwefel und Hefe ist zur Entstehung des Schwefelwasserstoffes nöthig. Luftzutritt schwächt die Schwefelwasserstoffbildung ab. (Nach Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 41.)

Amthor (90). In den durch Auspressen der Weinhefe dargestellten Hefeweinen verursacht FEHLING'sche Lösung einen starken, hellblauen, käsigen Niederschlag, der wahrscheinlich durch den von NÄGELI und LÖW in Hefeauszügen nachgewiesenen Pilzschleim verursacht wird; der Zucker in Hefeweinen muss daher auf andere Weise bestimmt werden. Im natürlichen Weinmost findet der Verf. Ammoniak, welches während der Gährung grösstentheils verschwindet, so dass in normalen Weinen nur wenig Ammoniak enthalten ist. In Hefeweinen ist Ammoniak in Folge von Zersetzung der Hefe reichlicher vorhanden. (Nach Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 4.)

Ikuta (108) beschreibt die Herstellung des Saké, welches in Japan ein ganz allgemein verbreitetes, hellgelbes, 15% Alkohol enthaltendes Getränk bildet, wie folgt. Zuerst wird der bekannte Koji bereitet, indem gedämpfter Reis mit Moyashi, „einer Art Hefe“ gemengt in Kammern bei höherer, konstanter Temperatur zwei Tage gehalten wird, wodurch die Stärke in Dextrose umgewandelt wird. Koji wird dann mit gekochter Stärke und Wasser in hölzernen Gefässen zu

dünnem Brei gemengt, welcher nach 1-2 Tagen in eine Gährung, die Daki genannt wird, kommt; das 10% Alkohol enthaltende Produkt heisst Motoh. Dieses wird mit Koji, gekochtem Reis und Wasser wieder 10 Tage der Gährung überlassen, dann durch baumwollene Säcke filtrirt und bei 44° C. in eisernen Kesseln pasteurisirt. Der weisse Rückstand in den Säcken ist das Ausgangsmaterial für Essigfabrikation.

Durin (98). Amyl- und Butylalkohol sollen durch einen besonderen Organismus in einer Nebengährung entstehen. Die Aldehyde bilden sich auch bei Luftabschluss, also nicht durch Oxydation der Alkohole, sondern durch Reduktion von Säuren, da die gährende Flüssigkeit stark reducirend wirkt. Auch die Praxis lehrt, dass die an Säuren reichen Produkte unreiner Gährungen auch an Aldehyd am reichsten sind. Als Gegenmittel empfiehlt Verf. reichliche Lüftung. (Nach Allgem. Brauer- u. Hopfenzeitung 1890, No. 27.)

Mathews (129). Bei Gährversuchen mit Bäckerhefen in einer Druckflasche aus verzinntem Kupfer mit in den Hals geschraubtem Manometer fand Verf., dass die Gährkraft einer Hefe in Rohrzuckerlösung oder Stärkekleister keinen Schluss auf den Werth dieser Hefe als Bäckerhefe zulässt und dass dieser nur durch eine wirkliche Backprobe festzustellen ist. Wenn Hefe Rohrzucker gut vergährt und Teig im Becherglase gut treibt, trotzdem aber beim Backen sich nicht eignet, so liegt das daran, dass sie nur den in Mehl vorhandenen Zucker vergährt und Stärke nicht angreift, dass es ihr an stickstoffhaltigen Substanzen fehlt und dass sie in Bäckerteig überhaupt nicht arbeitet. Verf. empfiehlt für Brauereizwecke nur Gährversuche in würzeähnlichen Flüssigkeiten zu machen.

Jago (111) bespricht die verschiedenen, bei der Brodbereitung verwendeten Hefearten und erwähnt dabei die „schottische Germ", welche bereitet wird, indem man eine schwache Würze aus Malz und Hopfen macht und Mehl und siedendes Wasser zugiebt. Charakteristisch für die schottische Germ ist reichlicher Gehalt an Milchsäurebakterien, die für die Güte des mit dieser Germ hergestellten Brodes nothwendig sind. Die Branntweinhefen sind die besten für die Bäckerei und es lassen sich da auch verschiedene Rassen unterscheiden. Mehl ist zur Vergährung mit Brauerhefe ungünstig, während Branntweinhefen bei Gegenwart von Mehl kräftig gähren und demnach zur Gährung des Teiges günstig sind. Die verschiedenen Brauer- und Branntweinhefen sind auch verschieden nach ihrer Fähigkeit bei höheren Temperaturen (50-55° C.) im Backofen noch einige Zeit weiter zu gähren. Eine Brauerhefe des Verf. gohr bei 55° in Zucker und Wasser noch, bei

einer einige Grade niedrigeren Temperatur in Mehl und Wasser aber schon nicht mehr. (Nach Allg. Brauer- und Hopfenztg. 1890, No. 25.)

Ludwig (125) nennt eine Reihe von weiteren Käfern etc., die er als Gäste am gährenden Schleimfluss der Bäume und als Verbreiter dieser Krankheit fand.

Zusammensetzung von Würze und Bier:

Brown und **Morris** (95) finden, dass die Umwandlung von Stärke durch Diastase eine ganze Reihe von Maltodextrinen oder Amyloinen, Verbindungen von Maltose und Dextrin ergiebt. Das Stärkemolekül zerbricht im ersten Augenblick der Hydrolyse in fünf Amylingruppen gleicher Grösse. Eine dieser Gruppen widersteht dem weiteren Einflusse der Diastase und repräsentirt das beständige Dextrin. Die anderen vier Amylingruppen werden durch Diastase succesive in Zwischen-Amyloine mit kleinerem Molekül und verschiedener complexer Zusammensetzung und schliesslich in Maltose übergeführt. Für die Bierbereitung sind diese nur langsam und allmählich vergährbaren Amyloine sehr wichtig. Bier am Ende der Hauptgährung reducirt Fehling'sche Lösung noch erheblich, gährt aber trotzdem kaum noch; dies erklärt sich daraus, dass freie Maltose in solchem Biere nicht mehr enthalten ist, sondern nur in Amyloinen, die nur während des Lagerns des Bieres von der Hefe abgebaut werden, wobei die entstehende Maltose successive vergohren wird. Die Nachgährung ist also eine Folge der Anwesenheit von Amyloinen. (Nach Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 18.)

Bau (91). Zur Erklärung der auffallenden Thatsache, dass in gährender Bierwürze der Dextringehalt, bei Benutzung der üblichen Bestimmungsmethoden, stetig zunimmt, hält Verf., unter Abweisung der von Delbrück und von Elion angegebenen, zwei Hypothesen für möglich. Entweder enthält die Würze neben Maltose eine Zuckerart, die ein höheres Reduktionsvermögen als Maltose besitzt oder in der Würze finden sich Substanzen, die Fehling'sche Lösung reduciren, theilweise vergährbar sind und nach der Gährung Körper zurücklassen, die als Dextrine mitbestimmt werden. Erstere Hypothese ist unwahrscheinlich, weil neben Maltose in Gerste oder Malz nur Spuren anderer Zuckerarten nachgewiesen sind. Letztere Hypothese dagegen erscheint dem Verf. annehmbar auf Grund neuer Arbeiten von Brown und Morris; die fraglichen, theilweise vergährbaren Körper wären dann die hypothetischen Amyloine oder Maltodextrine. (Vergl. dazu Brown und Morris; diese haben diese Körper inzwischen rein dargestellt und ihr Molekulargewicht bestimmt.)

Bau (92). Neuere Beobachtungen (vergl. das vorhergehende Ref.) lehrten den Verf., dass die scheinbare Zunahme des Dextringehaltes in der gährenden Würze durch die Gegenwart von Zuckerarten bedingt ist, welche ein höheres Reduktionsvermögen gegenüber FEHLING'scher Lösung besitzen, als die Maltose; diese Zuckerarten sind Dextrose oder werden beim Invertiren mit Salzsäure in Dextrose übergeführt. Wenn man in unvergohrener Würze die Maltose wie üblich durch Kupferreduktion bestimmen will, so fällt das Resultat zu hoch aus, weil man die durch die anderen Zuckerarten ausgeübte Reduktion auf Maltose berechnet. Da aber die Dextrinbestimmung von der Maltosebestimmung abhängt, so erhält man so zu niedrige Dextrinzahlen. Um letztere richtig zu erhalten, müssen die Mengen der neben Maltose vorhandenen Zuckerarten, die kurzweg als Dextrose bezeichnet sein mögen, bestimmt werden und Verf. erreicht dies, indem er die sterile Würze mit Saccharomyces apiculatus vergährt, welche Art bekanntlich Maltose nicht vergährt, wohl aber Dextrose und Invertzucker.

Sein Verfahren zur Bestimmung der Dextrose und des annähernd richtigen Dextringehaltes in Bierwürzen fasst Verf. wie folgt zusammen: Die Stammwürze prüft man vor und nach dem Sterilisiren auf ihren Extraktgehalt und stellt zur Kontrolle ihren Dextrosenwerth fest und besäet 150 ccm dieser sterilisirten Würze mit S. apiculatus. Nach der Gährung filtrirt man und bestimmt Rohmaltose, Dextrosewerth (durch Kupferreduktion) und wirklichen Extraktgehalt und berechnet den Dextrose- und Dextringehalt auf die Stammwürze.

Die Menge der neben Maltose vorhandenen Zuckerarten ist grösser als man bisher annahm; in einer vom Verf. benutzten Würze war 1% oder 12% der Rohmaltose an diesen Zuckerarten enthalten.

Elion (99) findet, dass die Maltosebestimmung mit FEHLING'scher Lösung in Würze und Bier völlig falsche Resultate giebt, da auch die völlig vergohrene Würze noch reducirt aber keine Maltose mehr enthält. Letzteres schliesst er daraus, dass eine Würze, der künstlich noch Maltose zugesetzt war, nach der Vergährung keinen Unterschied gegenüber der reinen Würze zeigte und ausserdem daraus, dass eine vergohrene Würze auf Maltosezusatz wieder in Gährung kam und nach Ablauf derselben kaum andere Resultate, wie nach der ersten Gährung gab. Der vergohrene Zucker besteht nur oder fast nur aus Maltose, denn die Abnahme des Trockenextraktes bei der Gährung entspricht fast ganz der Verminderung des Reduktionsvermögens und der bei Behandlung mit Salzsäure gebildeten Dextrose. Man kann also aus der Extraktdifferenz, der Reduktionsdifferenz und der Dextrosedifferenz die Maltose in Würze bestimmen; Verf. glaubt, dass das erste dieser drei

Verfahren das sicherste und mit den geringsten Fehlerquellen behaftete ist.

Die Versuche wurden stets mit reiner Hefe ausgeführt und Verf. hebt die Bedeutung derselben für derartige Versuche hervor. (Labor. der Heineken-Brauereigesellsch. Rotterdam.)

Auf die Reinzüchtung von Hefen und auf Verunreinigungen des Bieres durch andere Organismen bezügliche Mittheilungen:

Hansen (104) zeigt an Beispielen dänischer und australischer Brauereien, dass auch obergährige Brauereien ohne Betriebsänderung mit nach seinem System reingezüchteter Hefe arbeiten können. In England ist man davon auch überzeugt in Bezug auf obergährige Schankbiere, welche keine Nachgährung durchmachen, glaubt aber, dass eine solche reine Hefe nicht für Lagerbiere verwendbar sei, deren Nachgährung von einer bestimmten wilden Hefe abhänge, die Maltodextrine und Dextrine in Maltose umwandele und diese vergähre. Wenn dies wirklich der Fall ist, so muss man für die Hauptgährung und die Nachgährung zwei verschiedene Hefen auswählen und kann diese dann reingezüchtet im Betriebe verwenden. (Nach Chem. Centralblatt 1890.)

van Laer (118) und auch **Kokosinski** (115) berichten über gelungene Anwendung reingezüchteter Hefe in belgischen und nordfranzösischen obergährigen Brauereien. Ersterer weist Duclaux's Bedenken bezüglich der schnellen spontanen Verunreinigung solcher Hefe im Betriebe zurück. Kokosinski hebt die Constanz im Geschmack, Haltbarkeit und schnelle Klärung der mit reiner Hefe hergestellten Biere hervor. Aus nordfranzösischer Handelshefe isolirte er sechzig Rassen.

Jörgensen (112) empfiehlt zur Aufbewahrung reingezüchteter Hefe die seit lange von Hansen benutzte Auflösung von 10% Rohrzucker in destillirtem Wasser, in der die Hefe ihre Eigenschaften jahrelang nicht verändert. Die die Hefe enthaltende Rohrzuckerlösung wird in Kolben aufbewahrt, aus denen man mittelst eines gewöhnlich mit Asbest verschlossenen Seitenrohres einen Tropfen der aufgeschüttelten Flüssigkeit in Würze fallen lässt, wenn die Hefe vermehrt werden soll. Dagegen ist von der Aufbewahrung in Würzegelatine abzurathen, da nach neuerdings in Kopenhagen gemachter Erfahrung eine Oberhefe die Eigenschaft schneller Klärung bei längerer Aufbewahrung auf Würzegelatine verlor und erst nach vielen in gelüfteter Würze durchlaufenen Generationen wieder erlangte; ähnliche Veränderungen könnten auch bei anderen Rassen eintreten.

Rommier (137) beschreibt, wie er, indem er zerdrückte Weinbeeren gähren liess und aus dieser Kultur successive sterilen Wein-

most oder künstlich zusammengesetzte Nährlösung besäete, angeblich reines Material von Saccharomyces ellipsoideus erhielt. Die so erhaltene Hefe conservirt und versendet er in zugeschmolzenen Ballons. In einem practischen Versuche genügte es 4-5 Liter im Wasserbade sterilisirten Mostes mit 2 ccm Hefe aus gutem Wein zu besäen und diese Gährflüssigkeit nach einer Woche in das 10 Hektoliter haltende Gährfass zu bringen; der erzeugte Wein besass dann ein angenehmes Bouquet, welches er durch spontane Gährung nicht erhielt.

Hansen (105) hebt nachdrücklich hervor, dass das sonst übliche Verfahren der Bestimmung der Bakterienzahl in Luft und Wasser für die Brauer keine Bedeutung habe, weil viele Organismen nicht sowohl in Fleischwassergelatine, als in Würze etc. sich entwickeln. Bei solchen Fragen muss man daher stets die in der Brauerei selbst verwendeten Flüssigkeiten zum Versuch verwenden. (Nach Chem. Centralblatt 1890.)

Morris (131) bespricht an der Hand eigener Versuche die schon bekannte Thatsache, dass die beim Maischprozess mit Keimen beladene Würze beim nachherigen Kochen im Hopfenkessel schon nach 15 Min. völlig sterilisirt wird, wobei die Kochtemperatur, der Säuregehalt der Würze und der Hopfen und zwar nach Hayduck speziell ein Hopfenharz zusammenwirken. Verf. hält deshalb die bakteriologische Untersuchung des Malzes und Wassers für zwecklos, dagegen die der vom Kühlapparat kommenden fertigen Würze für werthvoll. (Nach Allgem. Brauer- und Hopfenzeitg. 1890, No. 34.)

Petersen (132) hat in einer Brauerei über ein Jahr auf Sarcina geachtet; Proben aus dem Lagerkeller in reine Flaschen gefüllt zeigten nach dreiwöchentlichem Stehen im Zimmer einen deutlichen Bodensatz, der meist aus Sarcina bestand. Da trotzdem das Bier völlig gesund blieb, folgert Verf., dass Sarcina unter Umständen mit Unrecht als Krankheitserreger angesprochen werden könne, obwohl die Möglichkeit von durch Sarcinaformen bewirkten Krankheiten untergähriger Biere nicht zu bestreiten sei. (Nach Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 6.)

Lindner (123). Die Zweifel von Hansen, Petersen, Jörgensen, ob Sarcina wirklich Krankheit im untergährigen Bier verursache, hält Verf. für unberechtigt und Impfversuche für unnöthig, da er und wahrscheinlich auch früher Bersch und Balcke in trübem Bier fast nur Sarcina fanden. Nicht zur Erfüllung der nach Ansicht des Ref. prinzipiell völlig berechtigten Forderung Hansen's, die Krankheit mittels Reinkulturen künstlich zu erzeugen, sondern nur um zu prüfen, ob die von ihm aus sarcinakranken Bieren isolirten Sarcinaformen Bier schädlich beeinflussen, impfte Verf. sterilisirte Würze in 10 Flaschen

mit reiner Hefe und säete sogleich oder später Reinkulturen von vermuthlich derselben Form von Pediococcus aus zwei untergährigen Bieren und einer von Pediococcus acidi lactici ein. Die in je zwei kleine Flaschen abgefüllten geimpften Biere zeigten, nachdem sie bei Zimmertemperatur oder auch zeitweise im Eisschrank gehalten worden waren, in allen Flaschen mit einer Ausnahme staubigen Bodensatz, mit dem fast immer ein Schleier im Bier selbst aufgetreten war; die mikroskopische Untersuchung einiger Flaschen zeigte Pediococcus. Der Geruch des einen geimpften Bieres war der, den man häufig in Sarcinabieren antrifft. Schliesslich erwähnt Verf. die Beobachtung, dass untergährige Biere durch Sarcinaentwicklung manchmal dick und fadenziehend werden.

Lindner (122) betont gegenüber Jörgensen, dass es durch die Analysen der Versuchsstation der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin bewiesen sei, dass praktisch gefährliche Trübungen im Bier durch Sarcina hervorgerufen werden; die genannte Station fand in trüben Bieren „reichlich“ oder „fast nur“ Sarcinazellen.

Zeidler (141). Aus trübe gewordener, gehopfter Würze mit sellerieartigem Geruch isolirte Verf. ein dem Bakterium termo nach Gestalt und Bewegungsweise auf Grund der Beschreibung von Cohn entsprechendes Bakterium und untersuchte dessen Wirkung auf Würze, fertiges Bier, mit Hefe angesetzte Würze, verschieden lange gährende Würze und gepresste reine Hefe. Es ergab sich, dass dieses Bakterium während der alkoholischen Hefegährung sehr schnell abstirbt, was bei brautechnischen Luft- und Wasseruntersuchungen zu beachten ist. In einem aus reiner Hefe und sterilem Wasser hergestellten Brei vermehrt sich das Bakterium massenhaft, die Hefezellen sehen dann wie angefressen aus und sind grossentheils todt.

Ausserdem untersuchte Verf. zwei aus Bier isolirte essigsäurebildende Bakterien, von denen er das erste 0,0015 mm dicke und 0,0025-0,006 mm lange für identisch mit B. aceti hält, während das andere 0,0025-0,003 mm dicke, 1,003-0,006 mm lange weder mit B. xylinum Brown, noch mit B. Pastorianum übereinstimmt. Aus den in gleicher Weise wie bei dem erwähnten ersten Bakterium geführten Versuchen mit Würzen und Bier geht hervor, dass manche Essigsäurebakterien Bier schleimig machen, Hefe aber nicht angreifen.

Arbeiten über das Effront'sche Fluorwasserstoffverfahren und einige verwandte Notizen:

Effront (98a) erzielt grosse Erfolge in Bezug auf Unterdrückung der im Betriebe der Brauerei und Brennerei der Diastasewirkung schädlichen Milchsäuregährung und der in derselben Richtung und auf

Hefewachsthum und Alkoholgährung hemmend wirkenden Buttersäuregährung durch den in der Praxis schon früher gelegentlich versuchten Zusatz von Mineralsäuren. Er studirt zu dem Zwecke die Wirkung der Flusssäure, Salzsäure und Schwefelsäure getrennt in Bezug auf die einzelnen in Betracht kommenden Faktoren, wie Milchsäuregährung, Buttersäuregährung, Diastasewirkung und Hefegährung. Er findet, dass 25 mg Flusssäure oder 200 mg Salzsäure oder 300 mg Schwefelsäure in 100 ccm Würze Milchsäure- oder Buttersäuregährung völlig unterdrücken und 2 mg Flusssäure, 20 mg Salz- oder Schwefelsäure dieselben merklich verlangsamen. Bei gleichzeitigem Vorhandensein beider Gährungen wird durch Zusatz von 8-10 mg Flusssäure auf 100 ccm Würze die Milchsäuregährung sehr verlangsamt und die viel gefährlichere Buttersäuregährung fast unterdrückt. Vor Erreichung dieses Optimums fällt die Säurebildung mit zunehmendem Flusssäurezusatz. Verf. untersucht weiter, ob die zur Unterdrückung der Milch- und Buttersäuregährungen nöthigen Mengen nicht schädlich auf die Diastase wirken und findet, dass bei 30°, bei welcher Temperatur in der Spiritusfabrikation die länger andauernde und deshalb Bakterienentwickelung zulassende Nachverzuckerung der Stärke statt hat, ein Zusatz von 5-10 mg Flusssäure auf 100 ccm Malzinfus die Erhaltung der Diastasewirkung auf Stärkekleister günstig beeinflusst. Nach vier Tagen hatte die Diastase in der mit 7 mg Flusssäure versetzten Probe noch 80%, in der nicht mit Flusssäure behandelten Probe nur noch 12% ihrer ursprünglichen Wirksamkeit. Schwefelsäure und Salzsäure zeigen diesen günstigen Einfluss nicht. Unter gewöhnlichen Verhältnissen in Maische wird die Diastase wegen des hohen Eiweissgehaltes dieser Flüssigkeit indessen viel mehr durch Säurebildung geschädigt. Verf. gelangte aber durch Zusatz einer gewissen, nicht näher angegebenen Menge Flusssäure zu dem bisher unerreichten Resultat, dass 9 Kilo Mais durch 3 Kilo Grünmalz fast völlig verzuckert und 96% Maltose und 4% Dextrin auf 100 Stärke gebildet wurden, so dass die Maltose aus dem zum Syrup eingeengten Gemisch auskrystallisirte. Dabei zeigte sich auch, dass für solche Verzuckerung 50° nicht die Optimaltemperatur ist, wie angenommen wird, wenn sie auch zur Unterdrückung der Säurebakterien günstig ist; denn man erzielt bei 50° höchstens 85% der Stärke an Maltose.

Phosphorsäure und mehrere organische Säuren können nicht an Stelle der Flusssäure verwendet werden, da sie der Diastase schaden; dagegen hindern auch die Fluorverbindungen, wie Fluorkalium und Fluorammonium die säurebildenden Bakterien und erhalten so die Kraft der Diastase; während aber (bei 30°) 20-25 mg Flusssäure der Diastase schon schaden, wirken z. B. 60 mg Fluorkalium noch günstig und

schadet ein Ueberschuss der Diastase nichts. Bei 53° und 60° wird die Diastase von steigenden, verhältnissmässig kleinen Flusssäuremengen mehr und mehr geschädigt, Fluorkalium und Fluorammonium konnte aber Verf. bis zu 150 resp. 100 mg auf 100 ccm Malzinfus anwenden, ohne die Diastase zu schädigen. Der Verf. wendet sich dann zu dem Einfluss der Flusssäure und Fluorüre auf die Gährthätigkeit der Hefe, während er über solche Einflüsse auf Wachsthum und sonstige Eigenschaften der Hefezellen an anderem Orte berichten will. Er findet, dass Presshefe in einer Lösung von Rohrzucker in destillirtem Wasser schon durch $^1/_2$ mg Flusssäure auf 100 ccm Flüssigkeit geschädigt wird, während 2-3 mg dieser Säure auf Hefe in Brunnenwasserrohrzuckerlösung günstig wirkt. Fluorkalium bis zu einer Menge von 5,5 mg erhöht dagegen die Hefethätigkeit in der Lösung in destillirtem Wasser und grössere Mengen von Fluorkalium schaden weniger in gewöhnlichem Wasser. Nach der Erfahrung über die Wirkung von Flusssäure in gewöhnlichem Wasser, welche sich wohl durch die Bildung von Fluorcalcium erklärt, wirkt Fluorkalium auch nicht wegen seines Fluorgehaltes auf Hefe in destillirtem Wasser günstig. Verhältnissmässig kleine Mengen von Fluorverbindungen schädigen schon die Hefethätigkeit wohl deshalb, weil sie Salze in der Hefezelle zersetzen und dieser so Nahrung entziehen; dann müsste diese Wirkung geringer sein in einer nährstoffreicheren Lösung, wie käuflicher Malzzuckersyrup, der Eiweissstoffe, Dextrin und Salze enthält. In diesem Medium beleben 50 mg Fluorkalium resp. 10 mg Flusssäure die Gährung noch, während in destillirtem Wasser 10 mg resp. 0,5 mg dieser Körper schon schädigen. Die Wichtigkeit dieses Resultates für die Praxis liegt auf der Hand. Schliesslich macht der Verf. noch einige Versuche mit Gährungen unter geringerem Hefezusatz (bis 4 g per Liter), der den praktischen Bedingungen entspricht und findet, dass bei Zusatz von Fluorkalium die Alkoholausbeute bei weitem nicht in dem Maasse mit der Hefemenge sinkt wie ohne Fluorkalium. Trotzdem bei kleiner Hefemenge die Wirkung der Säurebakterien grösser wird, findet hier das Maximum der günstigen Wirkung der Fluorverbindungen statt.

Nach diesen Ergebnissen kann in der Spiritusfabrikation die Säurebildung durch Bakterien mittelst der oben genannten Verbindungen gehemmt werden, ohne dass diese die Wirkung der Diastase oder der Hefe schädigen. Dementsprechend kann dann wegen besserer Ausnutzung der Diastase in der Praxis der Malzzusatz verringert werden und so erzielte Verf., als er aus 3 Kilo Mais 10 Liter Maische machte und zur Hälfte 20 mg Fluorammonium setzte, mit

14,0%	des	Mais	an	Malz	ohne	Fluorammon	57,02	Alkohol auf 100 Stärke.
7,5%	„	„	„	„	„	„	54,30	
14,0%	„	„	„	„	mit	„	66,98	
7,5%	„	„	„	„	„	„	66,07	

Man braucht nun auch nicht mehr zur Fernhaltung der Säurebildner bei 60-64° die Diastase wirken zu lassen, sondern erzielt bei 57° mit Fluorammonium dieselben Resultate. Guten Erfolg ergaben auch Versuche, in denen ohne vorherige Verzuckerung gleich die Hefe dem Gemisch aus gedämpftem Mais und klarem Malzinfus zugesetzt wurde, nämlich

ohne Fluorür 41,74 Alkohol auf 100 Stärke, Säure: 11,58
mit „ 63,26 „ „ 100 „ „ 4,1.

Erwähnenswerth ist, dass bei dem bisher üblichen Verfahren die Stärke nicht nur in Alkohol und Säuren, sondern noch in etwas Anderes verwandelt werden muss.

Für die Praxis empfiehlt Verf. 4-8 g Flusssäure per Hektoliter gleich nach der Kühlung der Maische oder 0,5-2 g per Hektoliter zur Hefe, zum Malz während der Verzuckerung oder zum Waschwasser zu setzen. In einer sehr gut arbeitenden Spiritusfabrik, die ohne Fluorür im Minimum 334, im Max. 386, im Mittel 365 Liter Alkohol aus 1000 Kilo Mais und 150 Kilo Grünmalz erhielt, erzielte Verf. bei Anwendung von Fluorür im Min. 339, Max. 432, Mittel 415 Liter. Die Gährtemperatur stieg in einer ohne Kühlung arbeitenden Fabrik ohne Fluorzusatz auf 38°, mit Fluorzusatz auf 32°. In allen Fällen hat der erzeugte Alkohol bei Fluorzusatz viel reineren Geruch. (Brüssel, Laboratorium der Maltosegesellschaft.)

Maercker (128) hat auf Veranlassung und unter Controlle von Effront zur Prüfung von dessen Verfahren einige Versuche in Brennereien angestellt und daran einige Versuche im Kleinen geschlossen. Erstens wurden Versuche in einer auch sonst mit gutem Resultate arbeitenden Brennerei zu Trotha mit Mais angestellt und Unterschiede in den Versuchen zu Gunsten der Anwendung der Flusssäure, welche in Mengen von 10 g käuflicher Flusssäure per Hektoliter gegeben wurde, gefunden. Die Säurebildung war in Trotha schon an und für sich gering, wurde aber bei Flusssäurezusatz doch noch um 0,24 ccm Normalnatron geringer. Die Zuckerbildung war bei Anwesenheit von Flusssäure etwas verlangsamt und trotzdem war die Vergährung in diesem Falle eine etwas bessere; dieses kommt daher, dass bei Gegenwart von Flusssäure die Wirksamkeit der Diastase während der ganzen Gährung ungeschwächt erhalten bleibt und darauf kommt mehr an, als darauf, dass von vornherein mehr Maltose gebildet wurde. Die

Alkoholausbeute war um 0,2% höher mit Flusssäure als ohne dieselbe. Ueberhaupt hoben sich die Erträge der Brennerei während der Zeit, wo mit Flusssäure gearbeitet wurde, von 9 auf 10%. In konzentrirten Maismaischen wurde der Alkoholertrag wohl etwas höher, aber erreichte lange nicht die der Verwendung von Maischgut entsprechende Menge. Zweitens wurden Versuche in Siegersleben mit sehr guten Kartoffeln ausgeführt, aber in dieser auch sonst vorzügliche Resultate gebenden Brennerei praktisch bemerkenswerthe Verbesserungen durch die Flusssäure nicht weiter erzielt, wenn auch eine sehr geringe Einwirkung der Flusssäure auf die Säurebildung auch hier zu bemerken war. Dagegen war der Flusssäurezusatz in Hadmersleben, wo mit schlechten, angefaulten Kartoffeln und bis in die warme Sommerzeit hinein gearbeitet werden musste, von sehr grossem und sicherem Nutzen:

	mit Flusssäure	ohne Flusssäure
Vergährung	2,2 Grad	2,4 Grad
Säure	0,92 ccm	2,13 ccm
Alkoholausbeute	9,73 Proz.	8,85 Proz.

Das Flusssäureverfahren hat demnach in solchen Fällen eine nicht zu verachtende Zukunft. Bei den Versuchen im Kleinen wurden je 3 kg Maische verwendet und der Gang der Gährung durch den Kohlensäureverlust bestimmt; zwei Versuche wurden mit Mais und zwei mit Darrmalz angestellt. Bei drei Maisversuchen eilte in den mit Flusssäure versetzten Maischen die Gährung gegenüber den nicht mit Flusssäure versetzten voraus, bald holte letztere aber das Versäumte nach und trat dann in eine stetige Nachgährung ein, während erstere längst zu gähren aufgehört hatte. Ganz derselbe Verlauf wird auch in der Praxis beobachtet. In allen diesen Versuchen im Kleinen zeichneten sich wieder die mit Flusssäure versetzten Maischen durch geringere Säurezunahmen und höhere Alkoholausbeute aus und dies war auch bei den Darrmalzversuchen der Fall, während reine Malzmaischen sonst sehr schlecht vergähren und eine schlechte Alkoholausbeute geben; eine solche günstige Wirkung der Flusssäure auf Malzmaischen giebt schon Effront an. Folgende Zahlen beziehen sich z. B. auf einen Darrmalzversuch:

	mit Flusssäure	ohne Flusssäure
Saccharometer	0,4 Grad	0,9 Grad
Säure	0,68 ccm	2,76 ccm
Alkohol	7,25 Proz.	4,35 Proz.

Ebenfalls zur Prüfung der Angaben von Effront liess Verf. Darrmalzmaischen mit Fluornatrium vergähren, indem er aus 2,5 kg Darrmalz und 6,5 Liter Wasser eine Maische bereitete und zu der einen

Hälfte 10 g Flusssäure fügte, die er mit Natronlauge genau neutralisirte. Das Fluornatrium wirkte hierbei ebensogut, wie die entsprechende Menge freier Flusssäure und Verf. führt dies darauf zurück, dass die in der Maische enthaltenen Säuren aus dem Fluornatrium Flusssäure frei machen; zum Beweise führt er an, dass Essigsäure, Buttersäure, Milchsäure und Oxalsäure bei Zusatz zu einer Fluornatriumlösung Glasätzung bewirken. Jedenfalls wird das Fluornatrium, wenn es ebenso wirkt wie Flusssäure, der leichteren Handhabung wegen in der Praxis erheblich vorzuziehen sein.

Die Angaben von Effront über die grössere Reinheit des mit Flusssäure hergestellten Spiritus haben Berechtigung, denn solche Maischen geben klare Filtrate, während die ohne Flusssäure bakterientrüb durchlaufen; auch geben nur erstere beim Reduciren mit Fehling'scher Lösung ein ziemlich reines Produkt und beim Behandeln mit Bleiessig einen viel geringeren Niederschlag. Verf. konnte auch aus im Laboratorium destillirten Spiritusproben immer die aus mit Flusssäure versetzten Maischen an dem reineren und angenehmeren Geruch erkennen.

Im Allgemeinen findet Verf. in den Resultaten dieser Versuche die Bestätigung, dass der Kern des Flusssäureverfahrens gut und Effront's Beobachtungen richtig sind. In ausgezeichnet geleiteten Brennereien wird dadurch freilich schwerlich etwas zu erreichen sein, aber für unter schwierigen Verhältnissen arbeitende und vor Allem für den Grossbetrieb industrieller Spiritusfabriken, die das ganze Jahr und besonders in heisseren Gegenden arbeiten, scheint dem Verf. das Flusssäureverfahren mit seiner der Gährkraft der Hefe nicht schadenden antiseptischen Wirkung höchst beachtenswerth.

Heinzelmann (107) fand in einer Melassebrennerei bei Zusatz von Flusssäure zu der Maische ungünstigere Resultate, wie bei Kartoffelmaischen, da die (hauptsächlich durch Bakteriengährungen bedingte) Säurezunahme der Melassemaische vom Abstellen bis zum Abbrennen derselben bei Flusssäurezusatz nur um 0,2^{0} geringer war, wie ohne Flusssäurezusatz, nämlich 0,6^{0} betrug, während Kartoffelmaischen bei Säurezusatz höchstens 0,3^{0} zeigten. Hiernach liegt für Melassebrennereien in Flusssäurezusatz kein Nutzen, so lange die Gährzeit gesetzlich vorgeschrieben ist, denn durch solchen selbst äusserst geringen Zusatz wird die Gährung verlangsamt, was noch merkbar war, als 2,5 mg Flusssäure zu 100 ccm Melasselösung gesetzt wurden. Beiläufig sei der Fall erwähnt, dass Melasse in einer Glasflasche unter starkem Flusssäurezusatz anfänglich äusserst langsam, am dritten Tage aber sehr schnell vergohr; dies erklärt sich offenbar so, dass die Fluss-

säure auf das Glas eingewirkt hatte und die entstehende Kieselverbindung die Hefethätigkeit begünstigte.

Delbrück (97) berichtet über zwei in der deutschen Praxis angestellte Versuche über das Flusssäureverfahren. Die Unterdrückung der Nebengährungen ist gelungen, die Maische ist indessen nicht so vollständig durch die Hefe vergohren worden, trotzdem aber ist im Verhältniss zum vergohrenen Extrakt etwas mehr Alkohol gebildet worden.

Soxhlet (140) hält die Einführung des Effront'schen Verfahrens für einen sehr bedeutenden Fortschritt. Verf. verzuckerte 1 kg Mais mit 80 g Malz und setzte zur einen Hälfte 0,15 g Fluorammonium. In der mit Fluor versetzten Maische war 1,5°/₀ mehr Maltose und 1°/₀ weniger unvergährbares Dextrin gebildet, als in der anderen Hälfte, was einer Alkoholmehrausbeute von 15°/₀ entspricht; in der fluorhaltigen Hälfte war nur halb so viel Säure gebildet. In vier Tage alter mit Fluor versetzter Schlempe nahm der Säuregehalt durch Gährung beim Stehen nicht zu. (Nach Chemikerztg. 1890, No. 28.)

Dagegen fand **Kruis** (116) bei Versuchen, die er im Grossen mit Kartoffeln unter Zugabe von Grünmalz anstellte, keine Wirkung der Flusssäure auf Alkoholmehrausbeute. (Nach Chem. Repertorium der Chemikerztg. 1890, No. 13.)

Vergleiche hierzu auch Hewelke und Tappeiner (p. 44).

S. A. (138) wünscht die für Spiritusfabrikation und Presshefegewinnung wichtige Säuerung des Gährmaterials durch Zusatz von Reinkulturen von Milchsäurebakterien zu sichern.

Brauer (93) fand, dass ein Zusatz von 140-160 g neutralem schwefligsaurem Natron pro Hektoliter während des Einmaischens zugefügt eine Mehrausbeute an Alkohol von 0,43 Vol. Proc. pro vergohrenen Saccharometergrad (0,55 Vol. Proc. Ausbeute als normal angenommen) ermöglicht. Die frei werdende schweflige Säure macht sich indessen unangenehm bemerkbar, greift auch die Kühlrohre an. (Nach Chemikerzeitg. 1890, No. 37.)

Rommier (135) bemerkte, dass in 1889 gekeltertem Most in mehreren Fällen keine durch Saccharomyces ellipsoideus verursachte Gährung in Gang kam und vermuthete, dass hieran die Bestäubung mit Kupfervitriol Schuld sei, welche den Reben zum Schutze gegen Peronospora viticola noch spät im Jahre zu Theil geworden war. Er versetzte daher je 40 ccm sterilisirten Most mit Kupfervitriol und säete Saccharomyces ellipsoideus ein.

Letzterer beginnt in reinem Most bei 18-25° nach 16-18 Stunden zu sprossen und vergährt nach 24 Stunden kräftig. Setzte der

Verf. soviel Kupfervitriol zu, als 1 mg Kupfer entspricht, so sprosste die Hefe erst nach 30 Stunden und gohr kräftig erst nach 84 Stunden. Bei Zusatz von Kupfervitriol = 3-4 g Kupfer wuchs die Hefe sichtlich nach 96 Stunden, 24 Stunden später kamen einige Gasblasen und die Gährung verlief weiterhin sehr langsam.

Verf. hält es nach diesen Versuchsergebnissen für möglich, dass die späte Kupfervitriolbehandlung die Ansiedelung des S. ellipsoideus aber nicht der anderen Hefen auf den Beeren hindern kann, was für die Bereitung edler Weine gefährlich ist, deren Bouquet mit der Hefesorte sich ändern kann. Daher ist späte Kupfervitriolbehandlung in der Technik zu vermeiden.

Ueber Alkoholgährung durch den Soorpilz berichten:

Linossier und **Roux** (124) finden, dass der Soorpilz Glykose, Lävulose und Maltose, aber nicht Rohr- und Milchzucker vergährt. Eine schwache, mit der Zeit eintretende Inversion des Rohrzuckers rührt nicht von dem Soorpilz direkt, sondern von den von diesem gebildeten Säuren her. Alle diese und die folgenden Versuche wurden mit Lösungen anorganischer Salze angestellt. In Gemischen von Glykose und Lävulose wird erstgenannte Zuckerart zuerst schneller vergohren (Tabelle 1), dann aber wird auch die Lävulose stärker angegriffen, so dass das Verhältniss der Glykosemenge zu der der Lävulose nicht unter 0,3 zu sinken scheint (Tabelle 2):

I.

Dauer der Gährung	Verhältniss Glykose : Lävulose
0 Tage	1
19 „	0,74
52 „	0,57
115 „	0,37

II.

Dauer der Gährung	Verhältniss Glykose : Lävulose
115 Tage	0,37
181 „	0,40
189 „	0,57
197 „	0,31

III.

	Nährlösung		
	neutral g	sauer g	alkalisch g
Verbrauchter Zucker	16,5	18,8	19,5
Gewicht der gewachsenen Pilzmenge	0,338	0,314	0,368
Alkohol	5,75	7,06	6,43
Verhältniss der Glykose zum Alkohol	0,35	0,38	0,33

Nach Tabelle 3 scheint die Reaktion der Nährlösung in der Weise auf den Soorpilz einzuwirken, dass in alkalischer Flüssigkeit

die vegetative, in saurer die Gährthätigkeit des Pilzes stärker angeregt wird.

Weiter entstehen bei der durch den Soorpilz bewirkten Gährung neben kleinen Mengen Glycerin und Bernsteinsäure Essigsäure und Aldehyd in ziemlich erheblicher Menge; so fanden sich in einem Falle, wo durch Zusatz von Calciumcarbonat für Erhaltung der neutralen Reaktion gesorgt war, auf 9,02 verbrauchte Glykose 2,73 Alkohol und 0,406 Essigsäure. Neben dem Alkohol wirkt hauptsächlich auch das sich ansammelnde Aldehyd jedenfalls schädlich auf den Soorpilz ein und macht ihn unfähig den ganzen in der Lösung vorhandenen Zucker zu vergähren. Die Essigsäure ist zum Theil jedenfalls ein Exkret des Soorpilzes, zum grösseren Theil entsteht sie aber ebenso wie das Aldehyd durch Oxydation des Alkohols und zwar glauben die Verf., dass der Soorpilz diese Oxydation nur bis zum Aldehyd treibt und aus diesem direkt durch Einwirkung des Sauerstoffs der Luft ohne Mitwirkung eines physiologischen Vorgangs Essigsäure entstehe. Wenigstens kann der Soorpilz fertiges, ihm in verdünnter Lösung gebotenes Aldehyd nicht weiter umsetzen. Aus verdünntem mit Aschensalzen versetztem und mit Soorpilz besäetem Alkohol entsteht auch Aldehyd und Essigsäure. Die Verf. glauben, dass hier zum ersten Male Aldehydbildung aus Alkohol als ausgiebige Gährwirkung eines Organismus nachgewiesen sei.

Die verhältnissmässig geringe Intensität der Gährthätigkeit des Soorpilzes, das Verhältniss des dabei gebildeten Alkohols zum verbrauchten Zucker und das dieses Zuckers zur gebildeten Pflanzensubstanz bestärken die Verf. in ihrer früher auf morphologische Gründe gestützten Ansicht, dass der Soorpilz nicht in die Nähe von Saccharomyces sondern in die von Mucor gehöre. Dieser Pilz sei auch viel empfindlicher gegen Sauerstoffentziehung wie Saccharomyces.

---

b) Milchsäuregährung, Käsegährungen und andere Gährungen in Milch.

142. **Bitter, H.,** Versuche über das Pasteurisiren der Milch (Zeitschr. f. Hygiene Bd. VIII, 1890, p. 240). — (S. 90)

143. **Currier, C. G.,** Milk sterilization (New-York Med.-Journ. 1890, p. 687).

144. **Eckervogt, R.,** Kefir, seine Darstellung aus Kuhmilch. Neuwied 1890, Heuser. — (S. 87)

145. Fokker, A. P., Ueber bakterienvernichtende Eigenschaften der Milch (Zeitschr. f. Hygiene Bd. IX, 1890, p. 41). — (S. 83)

146. Fokker, A. P., Onderzoekingen omtrent melkzuurgisting (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1890, p. 88 u. 509). — (S. 83)

147. Freudenreich, E. de, Recherches préliminaires sur le rôle des bactéries dans la maturation du fromage d'Emmenthal (Ann. de microgr. t. II, 1890, p. 257). — (S. 92)

148. Freudenreich, E. de, De la teneur du lait en bactéries (Ann. de microgr. t. II, 1890, no. 3 p. 115). — (S. 82)

149. Freudenreich, E. de, Ueber einen neuen im geblähten Käse gefundenen Bacillus (Bacillus Schafferi) (Landwirthschaftliches Jahrbuch Bd. IV, 1890, p. 17). — (S. 96)

150. Freudenreich, E. de, Sur quelques bactéries produisant le boursouflement des fromages (Ann. de micrographie. t. II, 1890, p. 553). — (S. 95)

151. Freudenreich, E. v., Zur Bakteriologie in der Milchwirthschaft (Kleine Milchzeitung 1890, No. 2). — (S. 82)

152. Heidenhain, Ueber Milchsterilisation durch Wasserstoffsuperoxyd (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, p. 488). — (S. 90)

153. Krueger, R., Bakteriologisch-chemische Untersuchung käsiger Butter (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VII, 1890, No. 14-16). — (S. 87)

154. Lazarus, Die Wirkungsweise der gebräuchlicheren Mittel zur Konservirung der Milch (Zeitschr. f. Hygiene Bd. VIII, 1890, p. 207). — (S. 89)

155. Liebig, J., Ueber die Ursachen des raschen Gerinnens der Milch bei Gewitter und die Mittel dasselbe zu verhindern [Dissertation]. Heidelberg 1890. — (S. 84)

156. Ratz, Stefan v., Ueber die schleimige Milch (Archiv f. Thierheilkunde Bd. XVI, 1890, Heft 1 u. 2). — (S. 87)

157. Schardinger, F., Ueber eine neue, optisch aktive Modifikation der Milchsäure, durch bakterielle Spaltung des Rohrzuckers erhalten (Monatshefte f. Chemie Bd. XI, 1890, p. 545). — (S. 85)

158. Schmidt-Mülheim, Die Milch als Nahrungsmittel und zugleich als Gift (Archiv f. animal. Nahrungsmittelk. Bd. V, 1890, No. 10/11).

159. Schmidt-Mülheim, Ueber das Pasteurisiren und Sterilisiren der Kuhmilch (Archiv. f. anim. Nahrungsmittelk. Bd. IV, No. 10; Bd. V, 1890, No. 1).

160. Scholl, H., Beiträge zur Kenntniss der Milchzersetzungen durch

Mikroorganismen. II: Ueber Milchsäuregährung (Fortschr. d. Medizin 1890, No. 2 p. 41). — (S. 83)

161. **Storch, V.,** Das Säuern des Rahmes (18. Bericht vom landw. Versuchs-Lab. in Kopenhagen). — (S. 85)

162. **Storch, V.,** Untersuchungen über Butterfehler und Säuerung des Rahmes (Milchzeitg. 1890, No. 16). — (S. 85)

163. **Storch, V.,** Nogle Undersögelser [bakteriologische und physiologische] over Flödens Syrning. Mit Taf. Kopenhagen 1890.

164. **Strub, E.,** Ueber Milchsterilisation (Centr. f. Bakteriol. Bd. VII, 1890, No. 21-23). — (S. 89)

165. **Weigmann, H.,** Ueber die Lochbildung und Blähung der Käse (Milchztg. Bd. XIX, 1890, p. 741; Landw. Wochenbl. f. Schleswig-Holstein 1890 No. 37). — (S. 92)

166. **Weigmann,** Ueber bittere Milch (Milchzeitg. Bd. XIX, 1890, p. 881). — (S. 88)

167. **Weigmann, H.,** Zur Säuerung des Rahmes mittelst Bakterienreinkulturen (Landw. Wochenbl. f. Schleswig-Holstein 1890, No. 29). — (S. 84)

168. **Weigmann, H.,** Neue Mittheilungen über Rahmsäuerung mittelst Reinkulturen von Säurebakterien (Milchzeitung 1890, Bd. XIX, p. 944-47; Landw. Wochenbl. f. Schleswig-Holstein 1890, No. 48). — (S. 84)

Freudenreich (148, 151) macht folgende Angaben über die Zahl der Bakterien, die er in verschieden lange Zeit und bei verschiedenen Temperaturen unter den sonstigen Bedingungen des täglichen Verkehrs aufbewahrter Milch gefunden:

I.

15° C.	Zahl der Bakterien in Cubikcentim.
Bei Ankunft im Laborat., 2 Stdn. nach d. Melken	9000
1 Stunde später	31750
2 Stunden später	36250
3 " "	35000
4 " "	40000
7 " "	60000
8 " "	67000
9 " "	120000
25 " "	5600000

II.

Zahl der Bakterien pro Cubikcentimeter:
Bei Ankunft im Laborat. $2^1/_2$ Stunde nach dem Melken 9300

	15⁰	25⁰	35⁰
3 Stunden später . .	10000	18000	30000
6 „ „ . .	25000	172000	12000000
9 „ „ . .	46500	1000000	35280000
24 „ „ . .	5700000	577500000	50000000

In den soeben mitgetheilten Fällen enthielt die Milch anfangs auffallend wenig Organismen, sonst fanden sich darin gleich oder bald nach dem Melken 10-20000 pro ccm, während Cnopf 60-100000 zählte.

Gleichzeitig prüfte Verf. die Reaktionsänderungen der Milch; anfänglich wird dieselbe etwas mehr alkalisch, dann nimmt die Säure ein wenig zu, schwankt weiter in engen Grenzen und vermehrt sich stärker gegen Ende des Versuches. Doch verhalten sich verschiedene Milchproben in dieser Beziehung verschieden und manchmal steigt der Säuregehalt kaum. Alle diese Erscheinungen rühren von der Gegenwart verschiedener Bakterien her. Die gewöhnlichen Formen, welche keinen charakteristischen Einfluss auf die Milch haben, dominiren anfänglich und falls die Milch bei 15⁰ gestanden hat, auch noch nach 24 Stunden und dann nimmt die Säure nicht zu. Wenn die Milchsäurebakterien die Oberhand gewinnen, wie dies besonders bei höherer Temperatur (25-35⁰) nach 24 Stunden eintritt, so verdrängen sie die anderen Formen. Daraus folgt, dass eine Milch, die viele verschiedene Bakterienformen enthält, nicht lange, wenigstens nicht in der Wärme gestanden hat, während Milch, die nur eine oder einige dominirende Formen enthält, meist alt sein wird.

Scholl (160) weist Fokker's (1889) Ansicht zurück, dass bei der Milchsäuregährung das Caseïn die Rolle des Fermentes spiele. Die Intensität der Milchsäuregährung hängt von der Spaltungsfähigkeit der Bakterien und damit indirekt von der Ernährung derselben ab, wie Verf. noch durch einen Versuch mit meist aus Hemialbumosen bestehendem Pepton beweist. Geeignete Conzentration des Caseïns und Milchzuckers, sowie geeignete Temperatur, alles Umstände, die in der Milch vorhanden sind, begünstigen auch die Milchsäuregährung.

Fokker (146) bleibt gegenüber Scholl aber doch bei seiner Ansicht. (Nach Chem. Centralbl. 1890.)

Fokker (145) isolirte aus Milch einen Mikrokokkus, der sterile

6*

Milch bei 37° in 20-24 Stunden gerinnen lässt und einen in derselben Weise langsamer wirkenden Bacillus. Ersterer bildet hauptsächlich Milchsäure, letzterer Säure, von der 40% Kohlensäure sind. Der Mikrokokkus scheint mit dem von KRUEGER beobachteten identisch zu sein (vergl. S. 87). Da durch Erhitzen sterilisirte Milch nach Infektion mit diesen Bakterien schneller gerinnt als frische aseptisch gemolkene, so glaubt Verf., dass letztere, wie Blut, die Eigenschaft besitzt, die Entwicklung von Bakterien zu hindern. Die diese Eigenschaft bedingende Substanz wird durch kurzes Erhitzen nicht, wohl aber durch längeres Erwärmen selbst nur auf 70° zerstört. Die genannten beiden Bakterien werden auch durch destillirtes Wasser vernichtet. (Nach Chem. Centralbl. 1890.)

Liebig (155) untersucht, ob die bekannte Thatsache, dass Milch bei Gewitterluft schneller sauer wird, auf dem Einfluss des Ozons in der Atmosphäre beruht, wie man früher meinte, kommt aber bei Versuchen mit Milch in einer Atmosphäre, die durch Ueberschlagen elektrischer Funken zwischen 0,8-0,9 cm entfernten Elektroden mit Ozon angereichert war, zu dem Resultate, dass das Ozon die Säuerung der Milch verlangsamt und folgert daraus, dass es die Entwicklung der Milchsäurebakterien hindert, was übrigens von anderen Gährungserregern bereits bekannt war. Vielmehr spricht sich Verf. dahin aus, dass die bei Gewitterluft herrschende hohe Temperatur die Gährthätigkeit der Milchsäurebakterien begünstigt und so das Sauerwerden der Milch beschleunigt. Er findet übrigens die Optimaltemperatur der Milchsäuregährung bei 30-35°, während HUEPPE 35-42° angegeben hatte. Er stellte Parallelversuche mit roher Milch und solcher, die Zusatz von Kulturen von Bacillus acidi lactici erhalten hatte bei verschiedenen Temperaturen an und findet darin, dass letztere schneller säuert und darin, dass die entsprechenden Parallelproben stets ein g l e i c h e s Säureoptimum zeigen, den sicheren Beweis dafür, dass Milchsäuerung nur durch Bakterien bewirkt wird.

Weigmann (167, 168) empfiehlt im Hinblick auf das neuerdings in der Brauerei Geleistete die Fabrikation der aus gesäuertem Rahm hergestellten Butter dadurch vor Schwankungen in der Güte des Produktes zu bewahren, dass man dem Rahm Reinkulturen ausgewählter Säurebakterien zusetzt. Dieselben werden zunächst frisch centrifugirter, zur Unterdrückung der darin enthaltenen Bakterien einige Stunden auf 3-4° gekühlter oder auch auf 60° erhitzter und dann auf 25° gebrachter Magermilch zugesetzt und am nächsten Tag ein Theil dieser nun sähmigen Milch zum ebenfalls vorher gekühlten und dann auf 25° gebrachten Rahm gesetzt; eine Pasteurisirung des letzteren ist für den Buttergeschmack gefährlich und zwecklos. Die erwähnte, die Säure-

bakterien enthaltende Magermilch wird von Tag zu Tag durch Zusatz frischer Magermilch aufgefrischt. Verf. fand bei diesen Versuchen, dass es viele, aus Milchzucker Milchsäure bildende Bakterien giebt, die daneben in verschiedenem Grade andere Fettsäuren erzeugen und demgemäss der Butter einen mehr oder weniger rein sauren oder aromatischen Geschmack verleihen. Nach einigen in Meiereien angestellten Proben scheint es dem Verf., als ob die Bakterienreinkulturen der Butter entweder Haltbarkeit oder Aroma, aber nicht beides zugleich verleihen, vielleicht kann dieses aber erreicht werden durch Mischung beider Kategorien von Bakterien. Ein auf Milchgelatine schon fruchtätherartigen Geruch erzeugendes Bakterium gab eine gute aber nicht feine Butter mit aromatischem Nachgeschmack; als aber gleichzeitig Milchsäurebakterien zugesetzt wurden, erzielte man eine feine und haltbare Butter. Weiter berichtet Verf. über eine ganze Reihe von mit solchen Reinkulturen in der Praxis angestellten gelungenen Versuchen.

Nach einem von **Storch** (161, 162) in Kopenhagen vor der dänischen Landwirthschaftsgesellschaft gehaltenen Vortrage sind für einige Butterfehler bestimmte Bakterienformen als Ursache mit grösserer oder geringerer Sicherheit wahrscheinlich gemacht, so z. B. für den widerlich talgigen Geschmack der Butter, welcher durch eine die Milch säuernde und koagulirende und die Form gewöhnlicher Milchsäurebakterien habende Bakterienform verursacht wird.

Der eigenthümliche Geschmack und das Aroma gesäuerter Butter im Vergleich zu der aus frischem Rahm gewonnenen süssen Butter beweist, dass die aromatischen Bestandtheile der ersteren Produkte des Säuerungsprozesses im Rahm sind. Unter 14 vom Verf. reinkultivirten Milchsäurebakterien verliehen zwei und besonders eine der Milch bei der Säuerung einen vollen und rein aromatischen Geruch vom Charakter des Butteraromas und angenehmen, milden, rein säuerlichen Geschmack, so dass diese Bakterien als eine der Quellen des Butteraromas anzusehen sind und Verf. glaubt, dass die Anwendung solcher Reinkulturen in der Praxis die richtige Säuerung des Rahmes gewährleisten wird. Das Butteraroma kann nicht aus den flüchtigen Säuren des Butterfettes gebildet werden, denn das oben besonders hervorgehobene Bakterium bringt in fett- und eiweissfreier peptonhaltiger Milchzuckerlösung denselben aromatischen Geruch hervor, wie in Milch oder Rahm. (Nach Milchzeitg. 1890 und Chem. Centralbl. 1891.)

Schardinger (157) erhielt durch Gährung aus Rohrzucker mittelst eines aus Brunnenwasser einer ungarischen Militärstation isolirten Bakteriums links drehende Milchsäure; der Theorie nach müsste Aethylidenmilchsäure, da sie ein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthält, in zwei

aktive Componenten spaltbar sein und dieser Forderung ist nunmehr experimentell genügt, da LEWKOWITSCH und auch MALY fanden, dass Penicillium glaucum Aethylidenmilchsäure rechtsdrehend macht und NENCKI und SIEBER einen bei Rauschbranduntersuchungen gefundenen anaërobiotischen Mikrokokkus beschrieben, der aus Traubenzucker Paramilchsäure bildet.

Die vom Verf. gefundene Form, die er Bacillus acidi laevolactici nennt, hat ungefähr die Grösse wie HUEPPE's Milchsäurebacillus. Die Kurzstäbchen hängen meist zu zweien, seltener in längeren, welligen Fäden zusammen und bilden keine Sporen. Auf Gelatine bildet der Bacillus porzellanweisse, emporgewölbte, mit einem schleimigen Hof umgebene Colonieen, in deren Umgebung nach längerer Zeit die Gelatine rothbraun verfärbt aber nicht verflüssigt wird. Zuckerhaltige Bouillon wird von dem Bacillus bald diffus getrübt und schäumt beim Schütteln, manchmal jedoch wird auch die Bouillon dickschleimig und es wachsen, zuerst mehr oberflächlich, schleimig-weisse Zoogloeen. Im letzteren Falle war das Gährprodukt qualitativ dasselbe, quantitativ geringer, so dass es sich wahrscheinlich um eine Abschwächung des genannten Bacillus handelt; Verf. wird darüber Näheres mittheilen. Aus Milch scheidet der Bacillus das Caseïn in klumpigen von Gasblasen durchsetzten Massen aus und vergährt Rohr-, Trauben-, Milchzucker und Glycerin. Verf. untersucht näher die Produkte der Rohrzuckervergährung, indem er 60 g Rohrzucker in 2 Liter einer Lösung von anorganischen Salzen je 14 Tage gähren liess. Das gebildete Gas bestand aus Kohlensäure und einem farb- und geruchlosen, mit schwach leuchtender Flamme brennbaren Gase. Aus der Gährflüssigkeit wurde zuerst eine kleine Menge Aethylalkohol abdestillirt. Aus dem Rückstande wurde eine Säure dargestellt, die nach den Eigenschaften ihres Silber-, Kalk- und Zinksalzes eine Modifikation der Milchsäure, aber keine Paramilchsäure ist, da sie die Polarisationsebene des Lichtes nach links dreht. Wie nach WISLICENUS die Paramilchsäure leicht stark links drehende Esteranhydride bildet, so beobachtete Verf. bei seiner neuen Säure Erscheinungen, die sich durch Anhydrisirung mit rechtsdrehenden Produkten erklären. Das Zinksalz der neuen Säure dreht gerade so stark nach rechts, wie das Paralaktat nach links. Die Lösungen jedes der beiden Salze für sich bilden einzelne Krystallindividuen, mischt man sie aber und erwärmt die auf die Polarisationsebene nicht wirkende Mischung etwas auf dem Wasserbade, so scheiden sich verwachsene Krystallindividuen aus und es ergiebt sich das interessante Resultat, dass sich aus einer solchen Lösung das Zinksalz der Gährungsmilchsäure ausscheidet. Letzteres besteht also aus zwei entgegengesetzt optisch-aktiven Salzen und Verf. schliesst daraus, dass die

Gährungsmilchsäure aus gleichen Theilen Rechts- und Linksmilchsäure besteht wie Trauben- und Mandelsäure.

Aus gährungsmilchsaurem Kalk durch den genannten Bacillus linksmilchsauren Kalk zu gewinnen, gelang dem Verf. bis jetzt nicht.

Eckervogt (144) beschreibt populär die Geschichte, Bereitung Zusammensetzung und Verwendung des mittelst Kefirkörnern hergestellten Getränkes. Zu erwähnen wäre wohl gewesen die von Beijerinck aus Kefir isolirte Hefe und die Erfahrung, dass aus Sauermilch ohne Kefirkörner ein mindestens äusserst ähnliches Getränk hergestellt werden kann.

Ratz (156) beschreibt nach einer Zusammenstellung der Litteratur über schleimige und fadenziehende Milch einen 1,2 μ breiten, 2,1 μ langen Mikrokokkus aus einer in Marne (Schleswig-Holstein) im Herbst beobachteten Milch, welche sich durch eine schleimig zähe werdende, aber nicht fadenziehende Rahmschicht auszeichnete. Dieser Mikrokokkus ist unbeweglich, verflüssigt die Gelatine nicht, wächst gut auf Gelatine, Agar, Kartoffeln und neutralisirten oder schwach alkalischen Molken. Auf Gelatine und Agar tritt er zuerst in glasig durchscheinenden Kügelchen auf. In sterilisirter Milch bewirkt er bei 22° schwache Gerinnung des Caseïns und macht letzteres wie die Rahmschicht schleimig, bei 35° tritt aber kaum noch Gerinnung ein; je älter die schleimige Milch ist, desto langsamer bringt sie frische Milch zum Gerinnen und wenn sie älter als 11 Tage ist, thut sie es gar nicht mehr. Wenn der genannte Mikrokokkus in unsterilisirte Milch gebracht wird, so wird das zu normaler Zeit geronnene Caseïn schleimig verändert. Die schleimige Milch ist sehr reich an Milchsäure. Nach seinen Untersuchungen kann Verf. nicht entscheiden, ob die Erscheinungen der fadenziehenden und der schleimigen Milch identisch sind. Jedenfalls hatte er aber andere Organismen unter Händen, als Schmidt-Mülheim, Hueppe und Loeffler und in seinem Falle war auch der Rahm noch zu Butter verwendbar, in denen der anderen Autoren nicht.

Krueger (153) untersuchte eine Butterprobe mit niedrigem Fettgehalte, hohem Eiweiss- und Milchzuckergehalt, die demnach schlecht ausgearbeitet war; sie roch stark nach faulem Harn, hatte käsiges Aussehen und nahm an jeder frischen Schnittfläche schnell tiefgelbe Färbung an. Verf. isolirte aus der reichen Bakterien- und Hefenvegetation dieser Butter eine Anzahl von Formen und prüfte qualitativ deren Verhalten in Milch, Lösungen von Milchzucker, milchsaurem Kalk und Traubenzucker mit Aschensalzen, auf Würfeln von Hühnereiweiss und reinem neutralen Butterfett. Er fand ausser dem Bacillus acidi lactici, der neben Milchsäure auch Kohlensäure producirt und dessen vegetative Zustände absterben, wenn die Flüssigkeit einen bestimmten

Säuregrad erreicht hat, einen Mikrokokkus, der neben Milchsäure keine Kohlensäure bildet und, wenn die Milchsäuremenge ein bestimmtes Maximum erreicht hat, Eiweiss peptonisirt. Der Bacillus fluorescens non liquefaciens, ein schlanker 1,5-2,5 μ breiter Bacillus mit endständigen elliptischen Sporen, die durch Streckung nicht durch Platzen eines Exosporiums keimen sollen, bildet Buttersäure nicht direkt aus dem Milchzucker, sondern spaltet die Glyceride des Milchfettes in Glycerin und Fettsäuren und wandelt letztere in Buttersäure oder weiter in Ameisensäure um. Gleichzeitig bewirkt er unter Schwefelwasserstoffentwickelung Fäulniss der Eiweisskörper der Milch und führt dieselben in Trimethylamin und Ammoniak über. Ausserdem isolirte Verf. einen kleinen elliptischen, sporenbildenden Saccharomyces der auf Nährlösungen und am besten auf mit geronnener Milch durchknetetem Butterfett gelbe Ueberzüge, wie sie auf der Eingangs erwähnten Butter beobachtet wurden, bildete. Derselbe ist demnach die Ursache dieser Erscheinung und Verf. bezeichnet ihn als S. flava lactis. Alle vom Verf. untersuchten aerobiotischen Formen wuchsen auf reinem Butterfett sehr schlecht; wenn sich dies für anaerobiotische Formen ebenso verhält, worüber Verf. bald eingehender berichten wird, so würde das Ranzigwerden der Glycerinfette als rein chemischer Vorgang aufzufassen sein.

Weigmann (166) bezeichnet zunächst die Ansicht von Krueger[1], dass durch Bakterien gebildete Buttersäure die Milch bitter mache, als unhaltbar, da zugesetzte Buttersäure der Milch keinen solchen Geschmack ertheile. Verf. fand in Milch ein sporenbildendes, etwas bewegliches, 1,5-1,8 μ langes, 0,9-1,1 μ breites Bakterium, welches 24 Stunden nach der Impfung der Milch einen bitteren Geschmack verleiht; dasselbe bildet in Milch kein Gas, wohl aber ein caseïnlösendes Ferment und flüchtige Säure, die aber keine Buttersäure ist. Um zu prüfen, ob das erwähnte caseïnlösende Ferment den bitteren Geschmack verursacht, brachte Verf. die stark leim- und caseïnlösenden Bacillus mycoides und subtilis in Milch, ohne aber einen stark bitteren Geschmack dadurch erzeugen zu können. Butter, welche aus mit dem oben beschriebenen Bakterium geimpftem Rahme hergestellt war, nahm keinen bitteren Geschmack an, wurde aber schmierig und schwach ranzig. Andere caseïnlösende Bakterien, wie der Gelatine verflüssigende B. mycoides, verändern die Butter nicht in dieser Weise. Auf Milchgelatine ruft das beschriebene Bakterium der bitteren Milch den eigenthümlichen Geruch nach Kleister und Häringslake hervor, wie viele Fäulnissbakterien; demnach ist vielleicht eine eigenartige Zersetzung

---

[1]) Molkereizeitung 1890, No. 30.

des Caseïns die Ursache des Schmierigwerdens der Butter. Damit steht nicht im Einklang, dass das beschriebene Bakterium magere Backsteinkäse nicht bitter macht.

Ueber Milchsterilisation handeln folgende Arbeiten:

Strub (164) bespricht vergleichende Versuche mit verschiedenen im Original näher beschriebenen Milchsterilisationsapparaten, in denen leider nur auf die Zahl der am Leben gebliebenen Organismen und nicht auf deren physiologische Thätigkeit Rücksicht genommen wird und findet, dass mit keinem dieser Apparate, selbst nicht nach drei Mal eine Stunde währender Erhitzung im Koch'schen Dampfsterilisirapparat wirklich organismenfreie Milch zu erzielen ist, wenn sie auch gut zur Kindernahrung verwendbar ist. Die Sterilisationsverfahren von Soxhleth und Escherich sind besser als die von Soltmann, Bertling etc.

In sehr vielen dieser sterilisirten Milchproben fand Verf. den B. mesentericus vulgatus ebenso wie Loeffler[1], eine Form, die möglicherweise mit der identisch ist, für die Globig[2] angiebt, dass ihre Sporen erst nach 3stündigem Erhitzen auf 100° sterben. Reines Sporenmaterial konnte Verf. in Milch 3mal auf 100° erhitzen, ohne es völlig zu tödten, doch erhielt sie bessere Resultate, als sie 12stündige Intervalle zwischen der Sterilisation nahm, so dass durch Variation dieser Intervalle vielleicht das Ziel einer keimfreien Milch zu erreichen ist.

Lazarus (154) untersuchte zunächst die besonders im Kleinhandel gebrauchten chemischen Milchconservirungsmittel: Soda (für den Geschmack zulässige Maximaldose pro Liter 3 g), doppelkohlensaures Natron (3 g), Borsäure (1-2 g), Salicylsäure (0,75 g), Borax (4 g), Aetzkalk (1,5 g) in ihrer Wirkung auf rohe oder sterilisirte und mit bestimmten saprophytischen oder pathogenen (Typhus, Cholera und anderen aber keine Tuberkel) Bakterien besäete Milch, indem er die nach verschieden langer und bei verschiedener Temperatur gehaltener Kultur darin enthaltenen Bakterien zählte. Die genannten Substanzen zeigten sich alle als unbrauchbare Konservirungsmittel. Die im Kleinhandel sehr oft gebrauchten kohlensauren Alkalien konnten das Auftreten der sauren Reaktion in der Milch um einige Stunden, die Gerinnung aber gar nicht herausschieben, was wohl auf die Begünstigung labproducirender

[1]) Berliner klin. Wochenschr. 1887, No. 33/34; Baumgarten's Jahres-Bericht III, 1887, p. 337.

[2]) Zeitschr. f. Hygiene 1888 p. 322; Baumgarten's Jahresbericht IV, 1888, p. 358.

Bakterienarten durch diese Substanzen bedingt ist, und sie beschleunigen sogar auch das Wachsthum der Cholerabakterien. Salicylsäure hemmt die Bakterienentwicklung ziemlich gut, verzögert die Gerinnung entschieden, schadet aber den Typhusbakterien nichts. Borsäure wirkt kaum, Borax nur wenig besser und Aetzkalk gar nicht auf das Bakterienwachsthum. Im Milchhandel sind daher nach Verf. alle diese Zusätze zu beanstanden. Dann hat Verf. noch Pasteurisirversuche mit dem THIEL'schen Apparat, bei dem die Milch an der Innenseite eines von Aussen mit Dampf geheizten Kupferwellblechcylinders herabläuft, angestellt und verwendet dabei rohe Milch mit pathogenen Bakterien versetzt. Die Leistungen des Apparates genügten nicht, da bei 70°, der höchsten Temperatur, bis zu der Milch ohne Geschmacksänderung erhitzt werden kann, Typhusbakterien und Saprophyten wahrscheinlich auch bei 75° nicht sicher getödtet werden.

Heidenhain (152) beschreibt, dass mit Wasserstoffsuperoxyd versetzte Milch (1 Liter Milch mit 5-6 Esslöffel Wasserstoffsuperoxyd) in mehr als 48 Stunden bei hoher Sommertemperatur nicht sauer wurde und nicht gerann. Auf mit solcher Milch versetzter Gelatine erschienen keine Colonien, Verf. enthält sich aber doch bezüglich der Lebensfähigkeit der in solcher Milch enthaltenen Bakterien eines bestimmten Urtheils.

Bitter (142) bespricht ausführlich die üblichen Verfahren der Milchsterilisation und kommt zu dem Resultat, dass sie alle ungenügende Resultate geben, weil dabei entweder die Organismen in der Milch nicht genügend getödtet werden oder der Geschmack der Milch sich zu sehr ändert. Er construirt daher einen von SEIDENSTICKER in verzinntem Kupfer ausgeführten Apparat zum Erhitzen oder Pasteurisiren der Milch, der aus einem 50 Liter fassenden Cylinder mit übergreifendem Deckel besteht, in dem ein von oben nahe der Wand nach unten gehendes, dann in engerer Windung nach oben und wieder nach unten laufendes und dort offen endigendes, 3 cm weites Rohr sich befindet, durch welches Dampf zur Erhitzung der dabei durch ein mittelst Kurbel bewegten Rührwerkes gemischten Milch geleitet wird. 40 Liter Milch wurden in 14 Minuten auf 75° C, in 10-12 Minuten auf 68° erwärmt und diese Temperaturen, wie auch die von 96° konnten leicht durch theilweises Abstellen des Dampfes konstant gehalten werden. Die Transportkannen werden im Deckel mit zwei kurzen eingelötheten Blechrohren versehen, an eins derselben ein bis auf den Boden der Kanne reichendes Blechrohr angesteckt und zur Sterilisirung der Kanne nun 15 Minuten Dampf so durchgeleitet, dass er die Kanne in einem 60 cm hohen Strahl verlässt. Von Milchkühlern erwies sich der von SCHMIDT in Bretten als der der Sterilisation am leichtesten zugäng-

liche. Er besteht aus einem Doppelcylinder, zwischen dessen Wänden Wasser circulirt und über dessen gewellte Aussenfläche die Milch läuft. Er wurde mit einem unten gut auf dem Sammelbecken des Kühlers aufsitzenden oben verengten Mantel aus Eisenblech versehen, in den durch den unteren Milchablasshahn 15 Minuten lang Dampf geleitet wurde. Beim Gebrauch werden Kannen und Kühler zuerst sterilisirt, dann durch den Milchablasshahn des Pasteurisirapparates Dampf geleitet und endlich die Milch erhitzt. Berührung der sterilisirten Gefässe mit den Händen ist zu vermeiden, die anfängliche Vertheilung der Milch auf dem Kühler durch ein mit sterilisirtes Holzstäbchen zu bewirken.

Verf. überzeugte sich nun, dass durch eine 30 Minuten währende Erhitzung der Milch auf 68° Typhus- und Tuberkelbakterien und damit wahrscheinlich alle Krankheitserreger getödtet werden; die Zahl der überhaupt in der pasteurisirten Milch noch lebend gebliebenen Bakterien war nach 15-20 oder 35 Minuten dauerndem Erhitzen gleich gering. Er pasteurisirte nun Vollmilch 30 Minuten lang, fand Geschmack und Aussehen ganz normal und fand die Haltbarkeit der pasteurisirten gegenüber der rohen Milch bei Aufbewahrung der ersteren bei 30° um 6-8 Stunden, bei 25° um 10, bei 23° um 20, bei 15° um 50-70 Stunden verlängert. Dabei wurde stets geprüft, ob nicht die Milch beim Aufkochen gerann, weil in der erhitzten Milch labfermentproducirende Bakterien vorkommen. Bei der von vornherein viel bakterienreicheren Magermilch wurde in 15 Minuten bei 75° das Maximum der Bakterienabtödtung erreicht und hielt sich diese Milch dann bei 23° 24-28 Stunden, bei 16° 60 Stunden, während die rohe fast unmittelbar verdarb. Der Zeitersparniss wegen ist auch für Vollmilch das den Geschmack nicht verändernde 15 Minuten lange Pasteurisiren bei 75° zu empfehlen, trotzdem die Haltbarkeit dadurch nicht wesentlich erhöht wird. Für Fälle, wo Milch bei hoher Sommertemperatur länger haltbar sein soll, ist eine 10 Minuten dauernde Erhitzung auf 96° anzuwenden, wobei aber geringe Geschmacksveränderung nicht zu umgehen ist. Verf. versucht auch eine Grenzzahl für den Bakteriengehalt der Milch anzugeben, von welcher an dieselbe etwa polizeilich zu beanstanden wäre. Da pasteurisirte und 24 Stunden bei 22° aufbewahrte Milch 25-30,000 im Cubikcentimeter enthält und sich dann noch mindestens 10 Stunden bei gleicher Temperatur hält, gute rohe Milch aber bald nach dem Melken in ähnlichen Grenzen schwankende Zahlen (25-100,000) giebt, so schlägt Verf. 50,000 als die besagte Grenzzahl pro ccm vor.

Durch diese Versuche ist nach Verf. die Möglichkeit einer allgemeinen Versorgung mit lange haltbarer und hygienischen Forderungen

genügender Milch bewiesen; die nach des Verf. Verfahren pasteurisirte Milch hält sich auch im heissesten Sommer mindestens 30 Stunden lang, wenn sie möglichst kühl im Keller gehalten und eventuell auch während des Transportes gekühlt wird. Das Verfahren des Verf. kostet für jede Milchportion nur 1 Stunde Zeit, Anheizen und Kühlen eingerechnet und beeinträchtigt die Ausrahmung der Milch nicht.

Ueber Käsegährungen handeln:

Weigmann (165) stützt die naheliegende Annahme, dass die Lochbildung im Käse durch Bakterien verursacht wird, welche den Milchzucker unter Gasbildung vergähren, durch Versuche. Erstens zeigt er, dass Käse in 24 Stunden Aufbewahrung bei 15^0 fast keine, bei 25^0 normale Löcher bekam. Dann setzte er zu der zum Käse zu verwendenden Milch Reinkulturen von zwei Bakterien, von denen das eine aus Milchzucker Buttersäure, Aethyl-, Butylalkohol und eine kleine Menge eines höheren Alkohols erzeugt und dadurch der Milch, der Butter und dem Käse einen fruchtätherartigen Geruch ertheilt und ausserdem eine grosse Menge Gas, welches zu 98$^0/_0$ aus Kohlensäure besteht bildet, während das andere Buttersäure und faulig riechendes aber schwefelwasserstofffreies Gas erzeugt. Beide Bakterien verursachten zu Milch gesetzt in dem daraus hergestellten Käse schon am Abend desselben Tages sehr starke Blähung. Nebenbei bemerkt Verf., dass er aus fehlerhafter Butter eine Hefe isolirte, die aus Milchzucker Alkohol und Kohlensäure bildete und dass er ein Bakterium kennen lernte, welches Buttersäure aber kein Gas erzeugte, während ein anderes daneben viel Gas bildete.

Freudenreich (147). Kenntniss der Ursachen des Reifungsprozesses der Käse ist für die Praxis sehr wichtig, weil jetzt z. B. beim Emmenthaler Käse 40$^0/_0$ fehlerhaft reifen; man weiss aber bisher darüber nur, dass bei Abwesenheit von Mikroorganismen Käse nicht reift. Schaffer und Bondzynski[1] haben nämlich festgestellt, dass Käse, der durch unsterilisirtes Lab aus Milch gefällt war, welche eine Viertelstunde gekocht und dann zur Wiederherstellung ihrer Gerinnungsfähigkeit mit einem Kohlensäurestrom behandelt wurde, nicht reifte, woraus folgt, dass die die Reifung bedingenden Bakterien in der Milch enthalten sein müssen. Auf anderem Wege ist Adametz[2] zum gleichen Resultat gekommen, der die Milch durch Antiseptika, Creolin oder Thymol sterilisirte. Duclaux (Le lait) hat dann aus Cantalkäse zehn Bakterienarten isolirt und deren chemische Eigenschaften unter-

[1]) Landw. Jahrbuch der Schweiz I p. 47 und II p. 32.
[2]) Landw. Jahrbücher Bd. XVIII, 1890, Heft 2 p. 228.

sucht. Diese Tyrothrix-Arten kommen aber nach der Untersuchung des Verf. im Emmenthaler Käse nicht vor, vermuthlich weil dieser ganz anders fabrizirt wird, als der Cantalkäse.

Verf. hat nun ebenso wie auch Adametz die Zahl der Bakterien im Käse und zwar in verschieden altem Emmenthaler Käse aus verschiedenen Sorten und Quellen bestimmt, wobei er aber selbst sehr richtig bemerkt, dass diese Frage nur untergeordnete Bedeutung habe. Um auch die anaerobiotischen Formen zur Entwickelung gelangen zu lassen, hat er auch Platten unter einer mit Hülfe von Paraffin luftdicht auf eine Metallplatte aufgesetzten Glasglocke gehalten und durch die Glocke einen Strom von Wasserstoff oder Leuchtgas (nach Foureur) geleitet. Die so isolirten Formen hat er dann entweder nach dem Verfahren von Buchner (Absorption des Sauerstoffs durch pyrogallussaures Kali) oder in Röhrchen in Gelatine kultivirt die mit flüssigem Paraffin bedeckt war und mit diesem zusammen bei 115° sterilisirt wurde. Er fand aber im Emmenthaler Käse keine streng anaerobiotischen Formen, wenn auch einige besser in der Tiefe der Gelatine oder Bouillon wachsen. Beim Reifen des Käses verändert sich die Bakterienflora insofern, als die anfänglich vorhandenen verflüssigenden Formen später ganz verschwinden. Wie auch Adametz fand vermehrt sich beim Reifen zunächst die Bakterienzahl, um nachher wieder zu sinken. Verf. bespricht zunächst ganz summarisch einige im frischen Käse gefundene Formen. In den meisten Fällen dominirte besonders in älteren Käsen ein Bacillus, der in Milch und frischem Käse nicht nachweisbar war und der ebenso wie die ihn in manchen Fällen vertretenden Mikrokokkusformen Milchsäuregährung verursacht, wonach wahrscheinlich die diese physiologische Eigenschaft besitzenden Formen eine wichtige Rolle beim Reifungsprozess spielen. Der erwähnte Bacillus, den der Verf. mit *α* bezeichnet, wird nun zunächst in dieser Arbeit ausführlich beschrieben. Derselbe bildet ungefähr 1 *μ* lange, kaum bewegliche Bacillen mit abgerundeten Enden, die meist zu zweien, einen Winkel bildend zusammenhängen oder Ketten bilden, die in manchen Nährböden überwiegen. In den Stäbchen entstehen glänzende Körperchen, die aber nach ihrer Färbbarkeit und der Resistenz der Stäbchen gegen hohe Temperatur keine Sporen zu sein scheinen. Leider scheint Verf. keine Keimungsversuche angestellt zu haben. Der Bacillus bildet auf Gelatineplatten weissliche, später gelbbraune runde Colonieen, die Verf. mit einem écheveau de soie tordu vergleicht; in Gelatineröhrchen wächst er kaum auf der Oberfläche, hauptsächlich dagegen am Stichkanal; er wächst überhaupt bei Sauerstoffabschluss besser, wenn er auch nicht streng anaerobiotisch ist. Auf Kartoffeln sind die Colonieen kaum sichtbar; in Bouillon wächst der Bacillus nur bei Milchzucker-

zusatz und verträgt darin bis zu 20°/$_0$ dieses Körpers. In solcher Nährflüssigkeit bildet der Bacillus bei 30-37° am folgenden Tage einen Bodensatz, der Fortsätze in die Flüssigkeit ausschickt, die dann zu Boden sinken, worauf die Flüssigkeit klar erscheint. Gegen hohe Temperatur ist der Bacillus *α*, wie oben bemerkt, nicht sehr resistent; er erträgt zwar 80° noch 15 Minuten, 90° aber nur noch ausnahmsweise. Auch durch Austrocknen an der Luft wird er schnell getödtet. In Bouillon ist er bei Sauerstoffzutritt nach 8 Tagen schon todt, hält sich aber bei Sauerstoffabschluss 6 Wochen. Die angeführten Eigenschaften zeigen, dass Bacillus *α* weder mit dem von Adametz in Käse häufig gefundenen Bacillus XIX noch mit Hueppe's Milchsäurebacillus identisch ist.

Aus Milchzucker macht der Bacillus *α* Paramilchsäure, wie Dr. Sieber in Nencki's Laboratorium für den Verf. feststellte. Daneben wird Kohlensäure, Spuren von Aethylalkohol, Spuren flüchtiger Fettsäuren, aber kein Aceton gebildet. Die Kohlensäure bestimmte Verf. quantitativ nach der für solche Zwecke sehr bequemen Methode des Dr. Schaffer in Bern, welche darin besteht, dass man auf Phenolphtaleïnpapier mit Kalkwasser, von dem 30 ccm 1 ccm Zehntelnormalsäure sättigen, rothe Flecke hervorbringt. In einer Kohlensäure enthaltenden Atmosphäre verschwinden diese Flecke in je nach der Menge der Kohlensäure verschieden langer Zeit, nämlich bei 0,3 °/$_{00}$ CO_2 in 20 Min., bei 0,7 °/$_{00}$ in 12 Min., bei 1°/$_{00}$ in 8 Min., bei 1,5°/$_{00}$ in 6 Min., 2°/$_{00}$ in 5 Min., bei 3°/$_{00}$ in 4 Min., bei 4°/$_{00}$ in 3,5 Min., bei 5°/$_{00}$ in 3 Minuten. Die Kulturen müssen sich natürlich für diese Bestimmungen in einem Rezipienten befinden, aus dem die Luft verdrängt wurde. Verf. hat dann in drei Serien von Kulturen bei verschiedenen Temperaturen die gebildete Paramilchsäure täglich bestimmt, um die Geschwindigkeit der Säurebildung festzustellen. Der Bacillus *α* bildet in einem Liter Bouillon bei Zusatz von 50 g Milchzucker in 24 Stunden 1,80 g Paramilchsäure bei 37° und 1,22 g bei 25°, in 48 Stunden 2,48 g bei 37°; dann steigt die Bildung konstant, bis in 19 Tagen 6 g Säure gebildet sind, durch welche Säuremenge die weitere Gährung sistirt wird. Bezüglich des Verhältnisses der verbrauchten Zuckermenge zur gebildeten Säuremenge seien folgende Zahlen aus einer Tabelle des Verf. mitgetheilt. Auf 1,12 g Säure kommen 13,4 g Zucker, auf 5,17 g Säure 25,9 g Zucker, auf 6,30 g Säure 29,3 g Zucker.

Auf die Eiweissstoffe der Milch wirkt der Bacillus nach einem durch mehrere Wochen laufenden Versuche nicht ein. Schliesslich hat Verf. Versuche mit aus gekochter Milch hergestelltem Käse, der mit Kulturen des Bacillus *α* inficirt wurde oder solche, in denen von je

zwei aus roher Milch bereiteten Käsen einer mit dem Bacillus inficirt wurde angestellt und gefunden, dass der Bacillus allein das Reifen des Käses nicht bewirkt, nur vielleicht beschleunigt. Vielleicht machen die in jungen Käsen vorwiegenden gelatineverflüssigenden Arten das Caseïn erst assimilirbarer und der Bacillus α und andere milchsäurebildende Formen sorgen dann durch ihre Kohlensäureproduktion für das Auflockern und die Löcherbildung im Käse.

Freudenreich (150). Eine bei den Fabrikanten gefürchtete Krankheit der Käse ist das Aufblähen derselben, wobei im Innern grosse Löcher und ein solcher Gasdruck entsteht, dass die Käse die Presse, unter der sie stehen, hochheben; gleichzeitig nehmen die Käse einen schlechten Geschmack an. Verf. konnte bisher aus älterem aufgeblähten Käse keinen Organismus isoliren, der den Käse in der beschriebenen Weise verändert, wohl aber fand er unter den von Guillebeau von kranken Eutern (mammite) isolirten und als für Kühe und Ziegen als pathogen erprobten Bakterien drei (Bacillus Guillebeau a, b, c), die nach Einbringung in gewöhnliche Milch in dem daraus hergestellten Käse grosse Löcher und sehr schlechten Geschmack hervorbringen. Die chemische Thätigkeit dieser Bakterien wird Nencki später beschreiben, Verf. macht hier zunächst Angaben über deren Verhalten in Kultur u. s. w.

Bacillus Guillebeau a wächst auch bei Luftabschluss gut, bildet auf Gelatine runde, gelbliche Colonien und verflüssigt diesen Nährboden nicht. Milch bringt er in 24 Stunden zum Gerinnen. Er ist etwas beweglich; seine Breite beträgt 1, seine Länge 1-2 μ. Er bildet keine Sporen und erträgt ein fünf Minuten dauerndes Erwärmen auf 80^0 eben noch, wird aber durch 15 Min. lange Einwirkung einer Temperatur von 70^0 schon geschädigt. Austrocknen erträgt er lange, gegen chemische Mittel ist er wenig widerstandsfähig. In Milchzuckerlösungen erregt er stark schäumende Gährung, setzt aber jedenfalls nicht den ganzen verbrauchten Zucker in Milchsäure um. Der Säuregehalt der Kulturen ist anfangs ziemlich hoch, steigt aber weiter kaum.

Bacillus Guillebeau b unterscheidet sich wenig vom vorhergehenden. Seine Colonien auf Gelatine sind fadenziehend, was bei Bacillus a nicht der Fall ist; ausserdem verflüssigt Bacillus b die Gelatine nach Wochen etwas.

Bacillus Guillebeau c. Die bemerkenswertheste Eigenschaft dieser Form ist, dass sie flüssige Nährmedien in kurzer Zeit fadenziehend, fast gelatinös macht. Sterilisirte Milch gerinnt bei 37^0 nach 60 Stunden unter Einfluss dieses Bacillus. Unsterilisirte Milch macht derselbe nicht fadenziehend wegen der Concurrenz der Milchsäurebakterien.

Verbrauch des Zuckers in 1 Liter Kohldekokt mit 10% Milchzucker durch diese drei Bakterien:

	Verbrauch in Gramm nach					
	1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	10 Tagen	20 Tagen	Bei Zugabe von kohlens. Kalk in 14 Tagen
Bacillus a	7,46	12,3	29	—	46	81,39
„ b	10,43	20,24	27,17	49,55	49,55	87
„ c	14,10	24,55	—	54,0	54,0	89

Der erwähnte Bacillus c scheint dem von van Laer (Note sur les fermentations visqueuses, Mém. cour. publ. par l'Acad. royale de Belgique XLIII, 1889) beschriebenen Bacillus viscosus sehr ähnlich zu sein, jedoch ist letzterer länger und dünner. Verf. weist zum Schluss noch auf die praktische Bedeutung der von ihm nachgewiesenen Beziehung zwischen den Blähungserscheinungen im Käse und den Euterkrankheiten hin.

Freudenreich (149) konnte neuerdings aus frischgeblähten und aus „nisserigen" Käsen einen in milchzuckerhaltiger Bouillon Gasbildung verursachenden Bacillus isoliren. Um die Wirkung desselben auf Käse festzustellen, verwendete Verf. theils gewöhnliche, theils pasteurisirte Milch; in Bezug auf die Herstellung der letzteren konnte er im Allgemeinen die Angaben von Bitter, wonach durch ein 15-20 Min. dauerndes Erwärmen der Milch auf 68-69° die meisten pathogenen und saprophytischen Bakterien getödtet werden, bestätigen, wenn auch manchmal in seinen Versuchen noch viele Individuen am Leben blieben. Durch das Pasteurisiren wird die Einwirkung des Labfermentes und die Verbutterung nicht beeinträchtigt, weshalb Verf. glaubt, dass später einmal die Käsefabrikation mit pasteurisirter Milch und Reinkulturen der bei der Käsebereitung betheiligten Bakterien arbeiten und so viele jetzt durch fehlerhafte Gährung eintretende Verluste vermeiden wird. Die aus je 10 Liter Milch mit Labessenz hergestellten Versuchskäse, die mit Bouillonkulturen des erwähnten B. Schafferi inficirt und nachher unter den üblichen Fabrikationsbedingungen weiter behandelt wurden, zeigten starke Blähungserscheinungen. Wie gesagt, isolirte Verf. denselben Bacillus auch aus „nisserigen" Käsen, die durch eine sehr grosse Zahl sehr kleiner Löcher charakterisirt sind. Er glaubt daher, dass dieser Bacillus nicht nur die Ursache der geblähten Käse mit grossen Löchern sondern auch der nisserigen Käse ist und dass erstere entstehen, wenn gleich nach Einbringung der Bakterienkultur das Caseïn koagulirt wird, während nisserige Käse entstehen, wenn die

Bakterien sich erst in der Milch vermehren und vertheilen können, ehe das Caseïn gefällt wird. Im ersteren Falle sitzen die gasbildenden Bakterienhaufen an einzelnen Stellen und machen grosse Löcher, im letzteren sind die Bakterienindividuen vertheilt und bilden je eine kleine Gasblase resp. Loch im Käse. Verf. führt zur Stütze dieser Ansicht geeignete Versuche an.

Ausserdem konnte Verf. den Bacillus Schafferi erhalten, wenn er rohe Kartoffelstücke mit sterilem Wasser übergoss. Deshalb ist die Gewohnheit der Landleute vor dem Melken die Hände mit Kartoffelbrei einzuschmieren, für die Käserei gefährlich. Bacillus Schafferi ist 1 μ breit, 1,5-3 μ lang, doch kommen auch 6 μ lange Exemplare und bis 25 μ lange Fäden vor; er wächst auch bei Luftabschluss und bildet auf Gelatine gelbe bis porzellanweise runde oder ausgebuchtete Colonien, auf Kartoffeln gelbliche, feuchte Rasen. Er bildet in Milchzuckerbouillon weniger stark Gas, wie B. Guillebeau a, b, c (vergl. Ref. p. 95); in sterilisirter Milch wächst er wenig, gut dagegen in durch Porzellanfilter gegangener Milch und bringt dieselbe wohl zur sauren Reaktion aber nicht zum Gerinnen. Dieser Bacillus wird durch 1 Viertelstunde dauerndes Erwärmen auf 70^0 getödtet und stirbt auch beim trocknen oder feuchten Aufbewahren bald ab. Er bildet keine Sporen, was Verf. freilich hauptsächlich nur aus seiner schwachen Resistenz zu folgern scheint.

Bacillus Schafferi ist Escherich's B. coli commune sehr ähnlich auch insofern, als er sich, wie dieser, mit Anilinfarben nur stellenweise, nicht durchweg färbt; er ist davon zu unterscheiden durch seine Beweglichkeit und mangelnde pathogene Wirkung in der Peritonealhöhle von Meerschweinchen. Auch einem von Tavel bei Strumitisfällen gefundenen Bacillus ist B. Schafferi ähnlich.

c) Harnsäuregährung, Nitrifikation, Wurzelknöllchen der Leguminosen.

169. Atwater & Woods, Aufnahme von atmosphärischem Stickstoff durch die Pflanzen (Americ. Chem. Journal vol. XII, 1890, p. 526). — (S. 134)

170. Beijerinck, M. W., Künstliche Infektion von Vicia Faba mit Bacillus radicicola. Ernährungsbedingungen dieser Bakterie (Bot. Zeitung 1890, p. 837). — (S. 128)

171. Blasi, L. de, und G. Russo Travali, Ueber das Reduktions-

vermögen der Mikroorganismen (Gazzetta chim. ital. vol. I, 1890, p. 18). — (S. 112)

172. **Bréal, E.,** Cultivation of the Leguminosae (Ann. agron. t. XV, p. 529). — (S. 133)

173. **Duchartre,** Résumé des observations faites par M. Trabut, en Algérie, sur les tubercules radicaux de certains Acacia très riches en azote (Bull. soc. bot. de France t. XII, 1890, no. 3). — (S. 134)

174. **Fleischer,** Holländische Warferde (Wiererde) macht Hochmoorboden fruchtbarer für Erbsen und Bohnen (Naturforschervers. Bremen 1890, Sektion f. Agrikulturchemie). — (S. 133)

175. **Frank, B.,** Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen (Landw. Jahrbücher Bd. XIX, 1890, p. 523). — (S. 120)

176. **Frank, B.,** Ueber Assimilation von Stickstoff aus der Luft durch Robinia Pseudacacia (Ber. d. bot. Gesellsch. Bd. VIII, 1890, p. 292). — (S. 127)

177. **Frank, B.,** und **R. Otto,** Untersuchungen über Stickstoffassimilation in der Pflanze (Ber. d. bot. Ges. Bd. VIII, 1890, p. 331). — (S. 127)

178. **Frankland, P. S.,** and **G. C. Frankland,** The nitrifying process and its specific ferment (Proc. of the Royal Societyf vol. XLVII, no. 289; Philos. Transactions of the R. Soc. o London vol. CLXXXI, 1890, p. 107). — (S. 107)

179. **Grandeau, L.,** Études agronomiques 5 série, 1889/90. Plantes améliorantes; travaux d'Hellriegel et Wilfarth; les microbes bienfaisants. 8⁰. 318 pp. Paris 1890, Hachette & Cie.

180. **Hellriegel, H.,** Ueber Stickstoffnahrung landwirthschaftlicher Kulturgewächse (Bericht. Intern. land- und forstwirthsch. Congress zu Wien 1890. Sektion V. Subsektion b. 8⁰. 15 pp. Wien 1890, Frick). — (S. 131)

181. **Koch, A.,** Zur Kenntniss der Fäden in den Wurzelknöllchen der Leguminosen (Bot. Zeitung 1890, p. 607). — (S. 129)

182. **Laurent, E.,** Expériences sur la production des nodosités chez les pois à la suite d'inoculations (Bull. de la soc. royale de Belgique 3 série, t. XIX, 1890, no. 6).

183. **Laurent, E.,** Expériences sur la réduction des nitrates par les végétaux (Ann. de l'Inst. Pasteur t. IV, 1890, p. 722). — (S. 110)

184. **Laurent, E.,** Sur le microbe des nodosités des Légumineuses (Compt. rend. de l'acad. Paris t. CXI, 1890, p. 754). — (S. 129)

185. **Lawes, J. B.,** and **J. H. Gilbert,** New Experiments on the Question of the Fixation of Free Nitrogen [Preliminary Notice] (Proceed. of the Royal Soc. London vol. XLVII, 1890, p. 85). — (S. 133)

186. **Leone, T.**, Bemerkungen zu der Notiz von L. de Blasi und G. Russo Travali: Ueber das Reduktionsvermögen der Mikroorganismen (Gazzeta chim. ital. vol. XX, 1890, p. 152). — (S. 112)

187. **Leone, T.**, Ueber die Reduktion der Nitrate durch Keime (Gazetta chim. ital. vol. XX, 1890, p. 98). — (S. 111).

188. **Leone, T.**, Nitrifikation und Denitrifikation in der Ackererde (Gazz. chim. ital. vol. XX, 1890, p. 149; Atti della R. Accad. dei Lincei. Rendic. vol. IV, 1890, p. 33). — (S. 110)

189. **Loew, O.**, Bildung von Salpetrigsäure und Ammoniak aus freiem Stickstoff (Ber. d. chem. Ges. 1890, p. 1443). — (S. 130)

190. **Miquel, P.**, Étude sur la fermentation ammoniacale et la décomposition de l'urée (Ann. de micrographie 1889 et 1890). — (S. 100)

191. **Muntz, A.**, Sur la décomposition des engrais organiques dans le sol (Compt. rend. de l'acad. Paris t. CX, 1890, p. 1206). — (S. 109)

192. **Muntz, A.**, Sur la décomposition des roches et la formation de la terre arable (Compt. rend. de l'acad. de Paris t. CXI, 1890, p. 1370). — (S. 109)

193. **Nobbe**, Versuche über Leguminosenknöllchen (Naturforschervers. Bremen 1890, Sektion für Agrikulturchemie). — (S. 132)

194. **Petermann**, Ueber die direkte Stickstoffaufnahme aus der Atmosphäre (Bull. ass. chim. belge t. III, 1890, p. 215). — (S. 134)

195. **Petermann, A.**, The nitrogen question (Bull. stat. agron. Gembloux 1890, no. 47, p. 1). — (S. 134)

196. **Prazmowski, A.**, Die Wurzelknöllchen der Erbse (Landw. Versuchsstationen Bd. XXXVII, 1890, p. 161 und Bd. XXXVIII, 1890, p. 1). — (S. 112)

197. **Prillieux**, Anciennes observations sur les tubercules des racines des légumineuses (Compt. rend. de l'acad. de Paris t. CXI, 1890, p. 926). — (S. 133)

198. **Schloesing, Th.**, Sur l'absorption de l'ammoniaque de l'atmosphère par la terre végétale (Compt. rend. de l'acad. Paris t. CX, 1890, p. 429 et 499). — (S. 111)

199. **Schloesing, Th.**, et **Em. Laurent**, Sur la fixation de l'azote gazeux par les légumineuses (Compt. rend. de l'acad. Paris t. CXI, 1890, p. 750). — (S. 130)

200. **Sestini, Fausto** und **Leone**, Ueber die ammoniakalische Gährung der Harnsäure (Landw. Versuchsstationen Bd. XXXVIII, 1890, Heft 2/3, p. 157; Gazz. chim. ital. vol. XX, p. 133). — (S. 100)

201. **Warington, R.,** Note on the Isolation of the Nitrifying Organism (Chem. News. vol. LXI, 1890, no. 1582). — (S. 109)
202. **Wilfarth,** Ueber die Stickstoffaufnahme der Pflanzen (Naturforschervers. Bremen 1890, Sektion f. Agrikulturchemie). — (S. 131)
203. **Wilfarth,** Bemerkung zu der Notiz von Fleischer: Ueber holländische Wiererde [siehe No. 174] (Naturforschervers. Bremen 1890, Sektion f. Agrikulturchemie). — (S. 133)
204. **Winogradsky, S.,** Recherches sur les organismes de la nitrification [I, II, III mém.] (Ann. de l'Inst. Pasteur 1890; Compt. rend. de l'acad. de Paris t. CX, 1890, p. 1013). — (S. 101)

Miquel (190) zeigt, dass der bisher als Harnstoffgährung bezeichnete Vorgang der Umwandlung von Harnstoff in kohlensaures Ammonium durch ein von den betreffenden Organismen ausgeschiedenes Ferment Urase bewirkt wird und deshalb ist das Referat über diese Arbeit in den weiter hinten folgenden Abschnitt dieses Berichtes über Fermente gestellt worden (siehe Inhaltsverzeichniss).

F. und **L. Sestini** (200) fanden, dass die Harnsäure ein sich z. B. im Guano findender und dort sich als gegen natürliche Agentien recht widerstandsfähig zeigender Körper zersetzt wird, wenn er in mit einem Tropfen faulen Harns versetztem Wasser suspendirt wird und die Verf. glauben, ohne indess mit Reinkulturen zu arbeiten, dass hierbei der Bacillus arce den Alborran e Halle[1] und Jaksch[2] untersuchten und der B. fluorescens besonders betheiligt sind. Die Harnsäure wird in solchen Versuchen bei reichlichem Luftzutritt in kurzer Zeit (8 g Harnsäure in 6 Liter Wasser bei 25° in 8 Tagen) vollständig in kohlensaures Ammon umgewandelt, wobei reichlich Kohlensäure entweicht nach der Formel:

$$C_5 H_4 N_4 O_3 + 8 H_2 O + 3O = 4 (NH_4HCO_3) + CO_2$$

Anfänglich scheidet sich dabei etwas Ammoniakharnsäure aus, die aber bald verschwindet. Unterbricht man aber den Versuch vor Beendigung der Gährung, so findet man nur die Hälfte des Stickstoffs der Harnsäure als Ammoniakstickstoff oder vielmehr es ergiebt sich eine Mischung, welche sich bei 100° in $CO_2 + NH_3 + H_2O$ theilt, während die andere Hälfte als Kohlenstoff-Stickstoffverbindung in der Flüssigkeit bleibt. Da nun Harnsäure leicht zu Alloxan und Harnstoff oxydirt wird, suchen Verf. nach diesen Produkten, finden auch glücklich Harn-

[1]) Bulletin de l'académie de médicine 1888, no. 34.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. V, 1881, p. 394.

stoff aber nur diesen in den vorzeitig abgebrochenen Versuchen. Sicher wirken die aërobiotischen Bakterien viel energischer als Salpetersäure, da sie die mittlere Gruppe $\begin{matrix} C \\ | \\ C \end{matrix}\!\!>\!CO$ des Harnsäuremoleküls zerstören und als Bruchstücke bleiben die beiden seitlichen Gruppen $CO\!<\!\begin{matrix} NH_2 \\ NH_2 \end{matrix}$, aus denen sich durch Hinzutritt des Wasserstoffs des Wassers Harnstoff bildet. Bei der vollständigen Gährung würden aber aus den Bruchstücken jenes Moleküls 5 CO_2 und 4 NH_3 gebildet.

Ueber Nitrifikation handeln folgende Arbeiten:

Winogradsky (204) zeigt, dass alle früheren Autoren bei Versuchen über Nitrifikation durch reinkultivirte Bakterienformen zu negativen Resultaten kamen, denn im besten Falle erzielten sie im Vergleich zu der im Boden spontan vor sich gehenden so geringe Salpetersäurebildung, dass die Möglichkeit zuzugeben ist, dieselbe sei gar nicht von den eingesäten Bakterien verursacht worden, da auch sterile Flüssigkeiten sich mit stickstoffhaltigen Verbindungen aus der Luft anreichern. Die durch seine bekannten vorzüglichen Arbeiten gewonnene Erkenntniss der Physiologie der Schwefel- und Eisenbakterien hatte es dem Verf. aber von Neuem wahrscheinlich gemacht, dass es Wesen gäbe, welche die mächtige Energiequelle der Ammoniakverbrennung im Wasser und Boden ausnutzten und es gelang ihm nun thatsächlich durch ein im Folgenden eingehend zu beschreibendes ebenso eigenartiges wie elegantes Arbeitsverfahren eine solche nitrifizirende Bakterienform zu isoliren und damit diese weittragende Frage der Lösung um ein gewichtiges Stück entgegenzuführen. Zunächst drängt sich dem Verf. der Gedanke auf, dass die Fruchtlosigkeit aller bisherigen Isolirungsversuche in Bezug auf die nitrifizirenden Organismen sich dadurch einfach erkläre, dass letztere in Gelatine nicht wachsen und dieser Eigenschaft ihre Rettung vor den Nachstellungen der Bakteriologen verdanken. Verf. stellte daher vielmehr folgenden Versuchsplan auf: Er macht mit einer für Nitrifikation günstigen und für Reduktionsprozesse ungünstigen Nährlösung successive Kulturen, bis die Zusammensetzung der Bevölkerung dieser Kulturen konstant geworden ist, isolirt dann alle sich darin findenden Spezies und prüft sie auf ihre Betheiligung beim Nitrifikationsprozess. Nachdem er ohne guten Erfolg eine einen organischen Körper, nämlich 1 $^0/_{00}$ weinsaures Ammon enthaltende Aschensalzlösung verwendet hatte, beobachtete er in je 100 ccm einer auf einen Liter reinen Wassers aus dem Züricher See 1 g schwefelsaures Ammon und

ebensoviel phosphorsaures Kali enthaltende Lösung, die mit basisch kohlensaurer Magnesia versetzt war, nach 4 Tagen gute und nach 6 Tagen starke Salpetersäurereaktion mit Diphenylamin; nach 14 Tagen war das schwefelsaure Ammon völlig nitrifizirt. Nach drei Monaten successive fortgeführter Kultur enthielt die Flüssigkeit konstant drei Bakterienformen, ein Oidium und einen wahrscheinlich einen Sprosspilz vorstellenden Organismus, die alle mittelst Gelatine rein kultivirt keine Nitrifikation verursachten. Zu Zeiten kräftiger Nitrifikation wurde aber ein vorübergehendes Opalisiren der Flüssigkeit hervorgerufen durch lebhaft schwärmende, etwas spindelförmige Organismen beobachtet und als aus solchen Kulturen Flüssigkeiten, die bis zu 1⁰/₀ schwefelsaures Ammon enthielten, inficirt wurden, nahm die am Boden liegende Schicht kohlensaurer Magnesia bald graue Farbe und gelatinöse Beschaffenheit an, weil die Salzpartikelchen von einer grauen Zoogloea desselben ovalen Bakteriums, welches das oben erwähnte Opalisiren der Flüssigkeit verursacht, eingehüllt wurden. Da diese Zoogloea nur auf der Salzschicht und nicht an den Gefässwänden oder der Flüssigkeitsoberfläche sich fand, so war der Gedanke unabweisbar, dass die diese Zoogloea bildenden Bakterien sich mit Hülfe einer chemotaktischen Bewegung auf der kohlensauren Magnesia ansiedeln, sie einhüllen und successive aktiv auflösen. Ueberträgt man von dieser Zoogloea ein Stück in frische Nährlösung, so ist die Nitrifikation nach 24 Stunden merklich. Demnach waren diese zoogloeenbildenden Bakterien wahrscheinlich eine der lange erfolglos gesuchten nitrifizirenden Formen, und es galt nun, sie rein zu kultiviren. Der Verf. überzeugte sich zunächst, dass selbst grössere Stücken dieser Zoogloea wirklich, wie schon oben vermuthet, in Gelatine nicht wuchsen; dann versuchte er dadurch die begleitenden Bakterienformen auszuschliessen, dass er im Anschluss an die erwähnten schlechten Erfahrungen mit einer weinsaures Ammon enthaltenden Nährlösung eine Kulturflüssigkeit benutzte, die möglichst frei von organischen Substanzen war. Er befreite das Wasser und die zu verwendenden Salze mit peinlichster Vorsicht von organischen Beimengungen und erreichte dadurch, dass schon in der zweiten der mit solchen Flüssigkeiten angestellten successiven Kulturen alle die die beschriebenen Zoogloeen begleitenden Organismen bis auf den oben erwähnten Sprosspilz verschwanden; letzterer war durch weitere successive Kulturen nicht zu entfernen. Verf. musste daher zur Isolirung des wahrscheinlich nitrifizirenden, zoogloeenbildenden Bakteriums einen anderen Weg einschlagen und erreichte sein Ziel durch ein ingeniöses Verfahren, dem die negative Eigenschaft dieses Bakteriums, auf Gelatine n i c h t zu wachsen, zu Grunde lag. Er wusch nämlich Stückchen der kohlensauren Magnesia, die mit der Zoogloea

bedeckt waren und aus den fast reinen ausser diesen Zoogloeen nur noch den Sprosspilz enthaltenden Kulturen stammten, mit sterilisirtem Wasser und legte sie auf gewöhnliche Gelatineplatten, die das anhängende Waschwasser schnell aufsaugen. Nach 10 Tagen wurden diejenigen Salztheilchen, in deren Umgebung keine Colonien des Sprosspilzes gefunden wurden, in sterile Nährlösung übertragen: nach drei Wochen war deutliche Nitrifikation nachzuweisen und in Gelatine, die aus diesen Kulturen besäet wurde, wuchs nichts. Der so isolirte Organismus tritt in Form einzelner, nicht zu Ketten vereinigter, ellipsoidischer Zellen auf, die 0,9-1 μ breit und 1,1-1,8 μ lang sind; manchmal findet man spindelförmige Zellen mit stumpfen Enden. Sporen bildet dieser Organismus nicht. Gewöhnlich ist derselbe in den Kulturen in Ruhe und zu den beschriebenen Zoogloeen vereinigt, während nur wenige Individuen schwärmen; plötzlich setzen sich aber manchmal für kurze Zeit fast alle Zellen in lebhafte Bewegung und bewirken so das erwähnte Opalisiren der Flüssigkeit. Wegen der nur wenig langgestreckten Form der Zellen stellt Verf. diese Form nicht unter Bacillus, sondern nennt sie Nitromonas als Prototyp einer den Monadina (Bütschli) nahestehenden Bakteriengruppe.

Es ist dem Verf. demnach geglückt einen der lange vergeblich gesuchten, nitrifizirenden Organismen zu isoliren. Wahrscheinlich wird aber Nitromonas nicht die einzige dieser Formen sein. Jedoch fand Verf. in Zürich und in einer aus dem äussersten Osteuropa stammenden Erde nur diese Form. Die Misserfolge aller früheren Autoren in dieser Richtung sind also thatsächlich auf die einseitige Verwendung von Gelatineplatten zurückzuführen, auf denen Nitromonas nicht wächst. Diese Erkenntniss drängt zur erneuten Wiederholung der schon so oft ausgesprochenen Mahnung an die „Bakteriologen", nicht gar zu fest auf die Gelatine zu bauen; sie hat die Auffindung des wichtigen nitrifizirenden Organismus lange unmöglich gemacht.

Der Verf. wendet sich nunmehr zur Untersuchung der Physiologie der Nitromonas. Contakt mit Carbonaten scheint dieser Nitromonas eine Lebensbedingung zu sein und der von ihr dabei bewirkte Lösungsprozess ist in der Natur sehr wichtig, weil dadurch der Kreislauf des Kohlenstoffs im Gange erhalten und dieses Element verhindert wird, sich in Masse als Carbonat abzulagern.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der mit vermeintlichen nitrifizirenden Bakterien angestellten Versuchen früherer Autoren war die Oxydationsenergie der Nitromonas in den Kulturen des Verf. so gross, dass auf Grund von durch Schloesing[1] angestellten Messungen der

---

[1]) Compt. rend. de l'acad. Paris t. CIX, 1889, p. 423.

Nitrifikation im Boden Nitromonas als der nitrifizirende Organismus par excellence bezeichnet werden kann. In SCHLOESING's Versuchen wurden bei Anwendung von 200 g Erde per Tag in 3 Versuchen je 3.4, 9.0 und 4.1 mg Stickstoff oxydirt, während in mit Flüssigkeit angestellten Kulturen des Verf. in einer im Mittel 4.93, während der lebhaftesten Nitrifikationsperiode aber 6.7 mg, in der anderen Kultur aber 7.7 mg N pro Tag oxydirt wurden. Zu diesen Zahlen sei bemerkt, dass Verf. in diesen Kulturen von vornherein viele, aus einer früheren Kultur mittelst Filtration durch Asbest gesammelte Individuen von Nitromonas brachte.

Der Verf. wendet sich nun zu Versuchen über die Deckung des Kohlenstoffbedarfs der Nitromonas, die zu Resultaten von grösstem physiologischen Interesse führten. Schon HERAEUS[1] bemerkte, dass ein Zoogloeastück aus einer Nitrifikationskultur in einer Mineralsalzlösung ohne Zusatz von Kohlehydraten zu einer Decke auswächst und findet, dass dies mit der Annahme, dass nur grüne Pflanzen Kohlensäure assimiliren können, in Widerspruch steht. HUEPPE[2] spricht dann noch entschiedener aus, dass diese Organismen Chlorophyllwirkung ohne Chlorophyll auch bei Lichtabschluss ausüben und dass sie auf Kosten des Kohlenstoffs des kohlensauren Ammons der Kulturflüssigkeit ein der Cellulose nahestehendes Kohlehydrat bilden. Diese Angaben beider Autoren sind indessen nach Verf. nicht genügend begründet. HERAEUS hat nicht untersucht, ob die benutzten Lösungen frei von organischem Kohlenstoff waren und nicht bewiesen, dass die darin kultivirten Zoogloeen an Trockensubstanz zunahmen; Volumzunahme durch Wachsthum ist aber sogar unter Trockensubstanzverlust möglich. Wenn andererseits, wie HUEPPE will, die in Rede stehenden Organismen ebenso wie chlorophyllführende Pflanzen Kohlensäure zersetzen, dabei also Sauerstoff frei wird und dieser sogleich zur Nitrifikation verbraucht wird, so müsste Nitrifikation bei Luftabschluss vor sich gehen; dies widerspricht aber allen Erfahrungen. Verf. hat nun selbst mit aller Vorsicht Versuche darüber angestellt, ob seine Nitromonas im Stande sei, aus Kohlensäure Kohlenstoff zu assimiliren. Die Reinigung der Gefässe, die Destillation des Wassers wurden mit äusserster Vorsicht ausgeführt, die verwendeten Salze geglüht, das schwefelsaure Ammon durch Einleiten von aus Salmiak und Aetznatron bereiteten Ammoniaks in verdünnte Schwefelsäure mittelst eines ganz aus Glas bestehenden Apparates hergestellt. Die Kulturen wurden nicht mit Watte, sondern mit geglühtem Asbest verschlossen. Dass die Nitromonas den Kohlen-

[1]) Zeitschrift f. Hygiene Bd. I, 1886.
[2]) SCHILLING's Journal f. Gasbel. und Wasservers. 1887.

stoff der in aus so gewonnenen Materialien hergestellten Kulturflüssigkeiten enthaltenen Carbonate zu assimiliren vermag, ging sowohl aus ihrer sichtlichen Vermehrung als auch genauer aus der quantitativen Bestimmung des in gebildeter organischer Substanz enthaltenen Kohlenstoffs hervor. Diese Bestimmung wurde nach der von Wolf, Degener und Herzfeld ausgebildeten Methode durch Zersetzung der organischen Substanz mit Schwefelsäure und doppelchromsauren Kali und Wägung der entstandenen Kohlensäure ausgeführt. Verf. fand so in vier Kulturen je 10.2, 7.1, 4.8 und 4.6 mg assimilirten Kohlenstoff, jedoch geben diese Zahlen vielleicht nicht die Gesammtmenge des in organische Substanz übergeführten Kohlenstoffs an, weil ein Theil desselben durch die Nitromonas selbst schon wieder verbrannt sein kann. Viel bedeutendere Mengen solchen Kohlenstoffs wies Verf. aber durch die in der dritten Abhandlung beschriebenen Versuche nach. Er führte hierbei die einzelnen Kulturen mehrere Monate fort, brachte aber die gesammte Bakterienmenge jeder Kultur immer nach 40-50 Tagen mittelst der oben erwähnten Filtration durch Asbest in eine neue Portion Nährlösung und setzte ausserdem alle 1-2 Tage schwefelsaures Ammon zu, da ein Ueberschuss dieses Körpers der Nitrifikation hinderlich ist. Nach jedem Abfiltriren wurde die gebildete Salpetersäure und salpetrige Säure und ausserdem am Schluss der in der gesammten Flüssigkeit und den Bakterien enthaltene Kohlenstoff bestimmt. Die in der folgenden Tabelle I angeführten Zahlen geben ein Bild der Resultate. Auffallend ist hierbei die Aehnlichkeit des Verhältnisses der assimilirten Kohlenstoffmenge zur oxydirten Stickstoffmenge, wenn auch eine Abhängigkeit der Kohlenstoffassimilation von der die einzige Energiequelle darstellenden Stickstoffoxydation von vornherein klar war. Andererseits machen die angeführten Zahlen auch das langsame Wachsthum der Nitromonas verständlich; es müssen nämlich 35.4 mg Stickstoff oxydirt oder 96 mg salpetrige Säure gebildet werden, ehe 1 mg Kohlenstoff assimilirt wird. Eingeschaltet seien hier die Ergebnisse neuer Versuche des Verf. in Bezug auf die Stickstoffoxydationsprodukte.

Tabelle I.

Cultur	Oxydirter Stickstoff mg	Assimilirter Kohlenstoff mg	Verhältniss beider
No. 1	722.0	19.7	36.6
„ 2	506.1	15.2	33.3
„ 3	928.3	26.4	35.2
„ 4	815.4	22.4	36.4

Tabelle II.

Cultur No. 1.

In frische Nährlösung am	Stickstoff in salpetriger Säure	Stickstoff in Salpetersäure
11. März . . .	81.3	3.2
1. Mai . . .	202.7	3.1
13. Juni . . .	151.1	2.3
30. Juli . . .	278.3	—

Die zweite Tabelle zeigt nämlich, dass der weitaus grösste Theil des oxydirten Stickstoffs in salpetrige Säure und nur ein kleiner Theil in Salpetersäure übergeführt wird. Dass bei der Nitrifikation salpetrige Säure entsteht, haben schon frühere Autoren bemerkt, Warington (p. 109) hat dies für Flüssigkeitskulturen hervorgehoben und P. und G. Frankland (p. 107), die neuerdings unabhängig vom Verf. ebenfalls einen nitrifizirenden Organismus isolirten, erhielten nur salpetrige Säure. Verf. untersucht nun, ob vielleicht mangelhafter Luftzutritt diese Abweichung der Nitrifikation in Flüssigkeiten von der im Erdboden bewirkt. Er bringt zu dem Zweck eine seiner Kulturen, deren Flüssigkeitsschichten $^1/_2$-1 cm tief waren, in ein weites Gefäss, so dass die Flüssigkeit vier mal so grosse Oberfläche und nur 1 mm Dicke erhielt. Die Kultur hatte vorher pro Tag 9 mg Stickstoff oxydirt und verarbeitete nun in dem weiten Gefäss pro Tag 22,7 mg; es war also erhebliche Beschleunigung der Oxydation erzielt worden, aber trotzdem hatte die Bildung von Salpetersäure nicht zu, sondern sogar erheblich abgenommen. Der Grund für die vorwiegende Bildung von salpetriger Säure in Flüssigkeiten muss demnach tiefer liegen. In Bezug auf die chemische Natur der erwähnten Kohlenstoffassimilation der Nitromonas widerspricht Verf. entschieden, wie erwähnt, der Auffassung, als sei dieselbe der Kohlenstoffassimilation der grünen Pflanzen an die Seite zu setzen. Verf. glaubt vielmehr, dass die Kohlenstoffassimilation durch Nitromonas in Form einer Amidbildung aus Kohlensäure und Ammoniak vor sich geht und dass das erste Produkt dieser Synthese vielleicht Harnstoff ist, der ja auch künstlich aus kohlensaurem Ammon bereitet wird und in thierischen Zellen aus Kohlensäure und Ammoniak entsteht. Die weitere Verwerthung dieses Harnstoffs zum Aufbau der Körpersubstanz der Nitromonas ist verständlich, da derselbe auch zur Ernährung anderer Bakterien genügt. Der vorstehend beschriebene nitrifizirende Organismus repräsentirt also einen „physiologischen Typus“, der dadurch charakterisirt wird, dass er vorzugsweise synthetisch wirkt, so Anhäufung organischer Substanz bewirkt und dadurch den chlorophyllführenden Pflanzen physiologisch nahe steht; andererseits zerstört

die diesen Typus darstellende Nitromonas kaum organische Substanz, wie dies andere niedere Organismen thun, sondern sie erlangt die zur Aufrechterhaltung ihrer Lebensprozesse nöthige Energie durch Oxydation von Ammoniak und ist demnach wohl den Schwefel- und Eisenbakterien an die Seite zu setzen.

Diese Ergebnisse der schönen Untersuchungen des Verf. verändern also völlig das Bild, welches die Physiologie sich bisher von dem Kreislauf des Kohlenstoffs in der Natur machte; die Zurückführung des Kohlenstoffs der Kohlensäure in organische Verbindung ist nicht mehr das Monopol der grünen Pflanzen. Die grosse Bedeutung der soeben besprochenen Untersuchungen des Verf. geht hieraus klar hervor; dass dieselbe sich auch hinsichtlich der Ausführung durch zielbewusste Fragestellung und vorzügliche Beachtung aller Fehlerquellen besonders auszeichnet, wird dem Leser hoffentlich das soeben gegebene Referat beweisen. Diese Arbeit ist ein neuer Beweis dafür, dass die gesammte Physiologie noch viele Resultate allgemeinster Bedeutung von Bakterienstudien, die aus berufener Hand hervorgehen, zu erwarten hat.

Percy und **Grace Frankland** (178) finden ebenfalls, dass sich kein nitrifizirender Organismus mittelst Gelatine isoliren lässt. Sie suchen dieses Ziel dann durch das Verdünnungsverfahren zu erreichen und gelangen bei successive immer weiter fortgesetzter Verdünnung zu den letzten noch Nitrifikation zeigenden Kulturen, von denen eine keine auf Gelatine wachsende Organismen enthielt, während eine andere, durch ebenso starke Verdünnung erhaltene, solche Wesen führte, aber keine Nitrifikation zeigte. Die Verf. nehmen daher an, dass erstere eine Reinkultur des nitrifizirenden Organismus war. Den Ausgangspunkt dieser Verdünnungen hatte eine Flüssigkeit gebildet, welche im Liter 100 ccm einer Nährsalzlösung (1 g phosphors. Kali, 2 g schwefels. Magnesia und 1 g Chlorcalcium in einem Liter Wasser) 0,5 g Chlorammonium und 5 g reinen kohlensauren Kalk enthielt und mit einer kleinen Menge Gartenerde versetzt nach 11 Tagen Salpetersäure und salpetrige Säure enthielt. Der so reinkultivirte nitrifizirende Organismus ist in den Kulturen in Form von 0,8 μ langen, in der Breite kaum weniger messenden, schwer färbbaren Stäbchen, welche einzeln, zu zweien oder in kleinen Haufen liegen, enthalten; die Verf. bezeichnen ihn als Bacillococcus, weil er in der Form zwischen Bacillus und Micrococcus stehe. Er ist unbeweglich und lässt die Flüssigkeit, in der er vegetirt, völlig klar. Die Verff. heben ebenfalls die Fähigkeit dieses Organismus besonders hervor, in von organischen Stoffen ganz freien Lösungen zu wachsen.

Bei der quantitativen Bestimmung der in den Kulturen gebildeten Stickstoffverbindungen benutzten die Verf. für Ammoniak Nessler's

Reagens, indem sie zur quantitativen Vergleichung der entstehenden Färbung eine Salmiaklösung von bekanntem Gehalt heranziehen. Zur Bestimmung der Salpetersäure zerstören sie zuerst die salpetrige Säure durch Verdampfen der Lösung mit einem Ueberschuss von Chlorammonium, zersetzen das zurückbleibende Nitrat mit Schwefelsäure und Quecksilber und messen das entstehende Stickoxydul gasanalytisch. Zur Bestimmung der salpetrigen Säure verdampfen sie die Lösung mit Natron zur Trockne, zersetzen den Rückstand mit Harnstoff und verdünnter Schwefelsäure und messen den entweichenden, von Kohlensäure befreiten Stickstoff.

Es ergab sich, dass eine reine Kultur vom 28. Juni bis 21. November desselben Jahres fast die Hälfte des gebotenen Ammoniakstickstoffs in Salpetrigsäurestickstoff verwandelt hatte, so dass die Lösung bei einem ursprünglichen Gehalt von 11,12 Theilen Ammoniakstickstoff in 100000 Theilen am Schlusse des Versuchs 5,76 Theile Ammoniakstickstoff, 6,43 Theile Salpetrigsäurestickstoff und keinen Salpetersäurestickstoff enthielt. Wegen des letzterwähnten Resultates glauben die Verf., dass vielleicht andere Organismen Salpetersäure bilden oder dass der hier in Rede stehende dies unter anderen Bedingungen thut. (Vergl. dazu Winogradsky [p. 101] und Warington [p. 109].)

Die Verff. überzeugen sich, dass thatsächlich der aus ihren Reinkulturen entnommene Organismus auf Gelatine nicht wächst, bemerken aber schliesslich, dass er in Fleischbrühe nach längerer Zeit (20 Tage bei gewöhnlicher Temperatur) wächst, diese trübe und stark schleimig macht und auf derselben eine zarte weisse Decke bildet; er tritt aber in diesen Kulturen in abgeänderter Gestalt in 1,5 μ langen, 0,5 μ breiten Bacillen, die manchmal bis 5,7 μ lange Fäden bilden auf, was Verff. aber nach Erfahrungen an anderen Formen nicht verdächtig finden, zumal nach Besäung einer ammoniakalischen Nährsalzlösung aus solcher Fleischbrühekultur wieder die zuerst beschriebenen Formen auftreten. Merkwürdigerweise soll aber dieser nitrifizirende Organismus in Fleischbrühe auch die Fähigkeit erlangen, auf Gelatine zu wachsen, was er sonst absolut nicht thut. In der ersten Gelatinekultur wächst er langsam, z. B. nach drei Wochen an, in successiven Kulturen später schneller. Er bildet auf Gelatine glatte, dünne, glänzende, graue Auflagerungen, die die Gelatine langsam verflüssigen; die in diesen Kulturen wachsenden kleinen Bacillen stehen morphologisch in der Mitte zwischen den oben erwähnten beiden Formen. Als der erwähnte Organismus aus Fleischbrühekultur in Ammoniaknährsalzlösung von 11 Theilen Ammoniakstickstoff auf 100000 Theile gebracht wurde, hatte er nach $3^1/_2$ Monat 1,1 Theil Salpetrigsäurestickstoff gebildet, so dass hier deutliche Nitrifikation vorliegt. Andere solche Kulturen

auch eine aus Gelatinekultur besäte, nitrifizirte nicht, Verff. meinen aber, dass wie andere so auch dieser Organismus auf dem veränderten Nährboden (Fleischbrühe, Gelatine) seine physiologischen Eigenschaften verändert haben könne.

Warington (201) bestätigt kurz auf Grund seiner gleichzeitig mit Frankland (siehe p. 107) ausgeführten aber noch nicht publicirten Versuche, dass der nitrifizirende Organismus auf Gelatine nicht wächst und durch Verdünnung isolirt werden kann. Er hebt hervor, dass in Frankland's sowohl, wie in seinen Reinkulturen nur salpetrige Säure entstand und dass zur Oxydation dieser zu Salpetersäure vielleicht ein zweiter Organismus nöthig sei oder aber, dass der nitrificirende Organismus durch die künstliche Cultur so geschwächt war, dass er nur noch salpetrige Säure bilden konnte. Seine Versuche sprechen dafür, dass Ersteres der Fall, ohne die Möglichkeit der zweiten Annahme auszuschliessen.

Muntz (192). Ausser den atmosphärischen Agentien und den höheren Pflanzen arbeiten auch die mikroskopischen Organismen in sehr umfangreichem Maasse an der Zersetzung der Gesteine und der Bearbeitung der Ackererde und zwar vor Allem die nitrifizirenden Organismen. Auf nackten hohen Felsen können nur Wesen leben, die ihre kohlenstoff- und stickstoffhaltige Nahrung aus der Atmosphäre nehmen können; in dieser Lage sind aber die nitrifizirenden Organismen, die sich von dem in der Atmosphäre vorhandenen kohlensauren Ammon nähren können[1] und die nach Winogradsky sogar den Kohlenstoff aus der Kohlensäure assimiliren. Diese kleinen Organismen bilden die erste auf dem Felsen sich einfindende Humusschicht. Thatsächlich wurde auf Felsstückchen der verschiedensten Natur der nitrifizirende Organismus dadurch nachgewiesen, dass solche Stückchen in sterilen Flüssigkeiten Nitrifikation hervorbrachten. Auf den hohen Felsspitzen kann dieser Prozess aber nur während des kurzen Sommers andauern, denn unter einer gewissen Temperatur wirken diese Organismen nicht mehr, wenn sie auch unter ewigem Gletscherschnee lange nicht absterben. Von den hohen Felsen steigen die nitrifizirenden Organismen auch mit den Felstrümmern, auf denen sie sitzen und in die der Fels allmählich zerfällt, in die Tiefe herab und wirken auch hier in den Vegetationszonen höherer Pflanzen. In faulen, mürben Gesteinen durchsetzen die nitrifizirenden Organismen die ganze Masse, wie es Verf. besonders frappant am Faulhorn beobachtete.

Muntz (191) sucht festzustellen, ob nicht Ammoniak aus den organischen Stickstoffverbindungen producirende Gährungsorganismen

---

[1]) Muntz: Ann. chim. phys. 6. série, t. XI und Compt. rend. t. XCII p. 499.

die Nitrifikation beschleunigen oder sogar eine nothwendige Vorstufe derselben sind. Er findet, dass in Böden, deren chemische Beschaffenheit die Nitrifikation unmöglich macht, Ammoniak aus den organischen Stickstoffverbindungen gebildet wird.

In Böden, deren Dichtigkeit die Nitrifikation erschwert, entsteht ebenso fast nur Ammoniak. In Böden, die auf 90° erhitzt wurden, wodurch die nitrifizirenden Bakterien, aber nicht die meisten anderen getödtet wurden, wird fast nur Ammoniak gebildet. Es ist sogar in Böden, in denen lebhafte Nitrifikation vor sich geht, Ammoniakbildung nachzuweisen. Dass die Ammoniakbildung im Boden durch Organismen bewirkt wird, wird bewiesen durch das Ausbleiben dieses Prozesses in auf 120° erhitzten Böden; nach Zugabe einer kleinen Menge nicht sterilisirter Erde hebt die Ammoniakbildung wieder an.

Leone (188) fand, dass in bei reichlichem Luftzutritt gehaltener Gartenerde die Nitrifikation weiter ging, bis alle salpetrige Säure oxydirt war, dass andererseits nach Zugabe von Dünger zu derselben Erde die Salpetersäure und salpetrige Säure abnahmen und gänzlich verschwanden, während Ammoniak stetig zunahm; später stellte sich die Nitrifikation wieder ein und endlich war Ammoniak und salpetrige Säure verschwunden und nur Salpetersäure vorhanden. (Repert. der Chemiker-Zeitg. 1890, No. 21.)

Laurent (183) zeigt im Anschluss an frühere Arbeiten von Déhérain und Maquenne, Gayon und Dupetit, Frankland, Warington, dass viele Bakterien Nitrate zu Nitriten reduciren. Hierbei zeigte sich ebenso wie bei den nachher zu erwähnenden Versuchen mit höheren Pflanzen, dass diese Reduktion nur vor sich geht, wenn den Organismen der Sauerstoff der Luft nicht zur Verfügung steht. Ausgesprochen aërobiotische Bakterien (B. subtilis, mesentericus, Tyrothrix tenuis) vermögen überhaupt keinen Sauerstoff aus Nitraten zu entnehmen. Verf. nimmt an, dass die Bakterien keine reducirenden Substanzen aus ihren Zellen ausscheiden, da bei Zusatz von Nitrat zu einer Kultur erst nach Stunden deutliche Nitritreaktion auftrat und andererseits ausbleibt, wenn mit dem Nitrat einige Tropfen Senföl zugesetzt werden. Diese Versuche sind aber nicht beweisend, da ja die Ausscheidung jener Substanzen erst in dem Augenblicke zu beginnen braucht, wo den Bakterien die Nitrate geboten werden. Die Nitrite verschwinden aus den Nährlösungen durch Zersetzung, wenn freie Säuren zugegen sind; die dabei auftretende salpetrige Säure hindert selbst in kleinen Mengen (1 : 5000) Hefen- und Bakterienentwicklung, während Nitrite an sich nicht schaden. Die Hefen reduciren schwach die Nitrate, doch ausschliesslich dann, wenn ihnen nur kleine Mengen gährungsfähigen Zuckers zu Gebote stehen. Algen und Pilze reduciren Nitrate auch.

Aehnliche Versuche machte Verf. auch mit keimenden Samen und mit Knollen verschiedener Pflanzen, wobei er Bakterienwirkung entweder durch Behandlung mit Sublimat und Kultur in sterilen Gefässen oder durch sehr kurze Versuchsdauer oder niedrige Temperatur ausschloss, sich auch überzeugte, dass die Objekte weder Nitrit noch mit dem verwendeten Nitritreagens (Naphtylaminchlorür mit Salzsäure und Sulfanilsäure giebt mit Nitriten eine rothe Färbung) eine ebensolche Färbung erzeugende Substanzen enthielten. Knollen und keimende aber nicht ruhende Samen wirken reducirend und zwar, wenn auch schwächer, selbst in zerriebenem, die Samen auch in langsam getrocknetem und gemahlenem Zustande. Verf. bestimmte auch quantitativ die Reduktion mit Hülfe des genannten Reagens und des Verfahrens von CHABRIER (Färbung von Stärke in Gegenwart von Jodkalium durch salpetrige Säure). Stets tritt die Reduktion auch hier nur bei Luftabschluss ein.

Aus Versuchen, in denen die Keimpflanzen und Knollen trocken 30 Minuten auf 55° oder 5 Minuten auf 100° erwärmt oder $^1/_2$-2 Stunden mit Alkohol, Aether oder Chloroform behandelt wurden, folgert Verf., dass solche Gewebe auch nach dem Tode noch reduciren. Gegen Senföl verhalten sich Samen und Knollen in dieser Beziehung verschieden. In Keimpflanzen und Knollen sind, wie Verf. aus positiven Resultaten der mit ausgepressten Säften angestellten Reduktionsversuche folgert, reducirende Substanzen vorhanden, die er aber nicht isoliren konnte. Controllversuche mit in Pflanzen verbreiteten organischen Säuren zeigten, dass die erst bei Erwärmung auf 100-120° eintretende Nitrate reducirende Wirkung diesen Körper nicht zur Erklärung der beschriebenen Reduktionsvorgänge in der Pflanze genügt.

Leone (187) findet im Anschluss an seine frühere Arbeit (1887), dass die Nitrate durch kleine Organismen nicht unter Bildung von Ammoniak, wie man allgemein annimmt, sondern unter Freiwerden von Stickstoff, den jene Organismen nicht assimiliren, reducirt werden. Verf. beobachtete auch, dass Zusatz von salpetersaurem Kali die Fäulniss beschleunigt, indem es die Funktionen der atmosphärischen Luft dort energisch verrichtet. (Nach Chem. Centralbl. 1890.)

Da seine früheren positiven Resultate bezüglich der Absorption von Ammoniak durch den Boden angezweifelt worden sind, so führte **Schloesing** (198) in den letzten vier Jahren 25 neue bezügliche Versuche aus, bei welchen Kalkzusatz und Feuchtigkeit variirt wurden.

Der Verf. findet, dass pflanzenfreier, kalkhaltiger Boden in saurem oder neutralem, feuchtem oder trockenem Zustande atmosphärisches Ammoniak absorbirt und zwar am meisten, wenn die Tension des Ammoniaks im Boden gleich Null ist, was eintritt, wenn durch Nitri-

fikation das Ammoniak in dem Maasse umgesetzt wird, als es vom Boden absorbirt wird. Wenn der Boden trocken ist, wird die Nitrifikation sistirt, die Tension des Ammoniaks im Boden steigt und die Absorption sinkt in gleichem Maasse.

Diese Versuche werden jedoch von BERTHELOT (a. a. O. p. 558) bemängelt.

de Blasi und **Travali** (171) einerseits, **Leone** (186) andererseits streiten sich über den Grund der Verschiedenheit der in Bezug auf Nitrifikation und Reduktion der Nitrate von ihnen früher erhaltenen Resultate. (Nach Chem. Centralblatt.)

Mit den Wurzelknöllchen der Leguminosen beschäftigen sich folgende Autoren:

Prazmowski (196) giebt hier eine ausführliche Darstellung der äusserst gründlichen Untersuchungen über die Wurzelknöllchen, die ihn mit Unterbrechungen seit dem Jahre 1885 beschäftigt haben und die offenbar wenigstens eine Reihe von lange dunkel gebliebenen und viel umstrittenen Fragen nach Ursache, Entwicklungsgeschichte und biologischer Bedeutung der Knöllchen lösen.

Zunächst stellt Verf. fest, dass Erbsen und Phaseolus vulgaris in in feuchtem Zustande sterilisirtem Boden nur dann Knöllchen bekommen, wenn dieser Boden mit Erdauszug oder in Wasser verriebenem Bakteroidengewebe aus der Mitte von Knöllchen inficirt wurde. Hieraus folgt in Uebereinstimmung mit ganz ähnlichen inzwischen von HELLRIEGEL (1886) und WARD (1887) bereits publicirten Versuchen und im Widerspruch mit den bisher vertheidigten Ansichten von BRUNCHORST, FRANK, TSCHIRCH u. A., dass die Wurzelknöllchen der Leguminosen in Folge von Infektion mit Keimen entstehen, die im Boden vorkommen und durch Luft und Wasser verbreitet werden können. Und zwar wirkt diese Infektion nur an noch nicht völlig ausgewachsenen Wurzeln.

Der Verf. versuchte nun weiter die Natur dieser inficirenden Organismen genauer festzustellen. Die allgemeine Verbreitung der Knöllchen, die Eigenschaft der inficirenden Keime durch Filter hindurchzugehen und die Gestalt der oft beschriebenen bakterienähnlichen Bakteroiden in den Knöllchen machten es wahrscheinlich, dass die gesuchten Organismen zu den Bakterien gehörten. Nach anfänglichem Misserfolg[1] und nachdem BEIJERINCK[2] die Kultur der Knöllchenbak-

[1]) PRAZMOWSKI: Bot. Centralblatt Bd. XXXVI, 1888.
[2]) Bot. Zeitung 1888 p. 725.

terien wirklich gelungen war, erzielte Verf. ebenfalls die gewünschten Reinkulturen, die er dann durch eine Reihe von Generationen in todtem Substrat weiterzog, um dann aus ihnen Leguminosen mit Erfolg zu inficiren und dadurch Knöllchenbildung zu erzeugen. Diese vom Verf. zum ersten Male mit positivem Resultat ausgeführten Infektionsversuche beanspruchen ein ganz hervorragendes Interesse, weil sie die durch die Arbeiten von Hellriegel, Ward, Beijerinck bereits wahrscheinlich gemachte Hypothese, dass die Knöllchen in Folge einer Infektion durch Bakterien entstehen, zur völligen Gewissheit erheben.

Die Kolonien der Knöllchenbakterien erscheinen auf mit Erbsenknöllcheninhalt inficirter Erbsenblätterdekoktgelatine nach einigen Tagen als weissliche Punkte, die zu erhabenen, wie erstarrtes Stearin aussehenden, perlmutterglänzenden Tropfen heranwachsen und später ein mattes und wässeriges Aussehen bekommen. Auf Nährlösungen (Erbsenblätterdekokt oder Traubenzuckerlösung mit Mineralsalzen) bilden die Knöllchenbakterien zuerst äusserst feine Häutchen, dann trübt sich die Flüssigkeit um sich schliesslich nach dem Absterben der Bakterien wiederum aufzuklären. Anfänglich treten in den Kulturen äusserst kleine, lebhaft schwärmende Stäbchen auf, dann kommen grössere, 2-3 μ lange, 0,2 μ breite, bewegliche, zu 2-4 verbundene vor. Später erscheinen wieder kleinere, zu käsigen Kolonien vereinigte Stäbchen, neben welchen sich auch isolirte, Monate lang ihre Schwärmfähigkeit bewahrende Stäbchen finden. Sporenbildung beobachtete Verf. bei diesem Organismus ebensowenig wie Beijerinck und er bezeichnet ihn deswegen und weil er weder in Form längerer Stäbchen auftritt noch zu Fäden auswächst, nicht als Bacillus sondern als Bacterium radicicola Beijerinck. Die aus anderen Leguminosen, als der Erbse, isolirten Bakterien zeigen von den eben beschriebenen etwas abweichende Eigenschaften, was mit dem vom Verf. angestellten vorläufigen Versuch übereinstimmt, worin er bei Lupinen durch Erbsenbakterien keine Knöllchenbildung hervorrufen konnte.

Weiter verfolgte der Verf. nun das Eindringen der Knöllchenbakterien in die Wurzeln und die Entwickelungsgeschichte der Knöllchen. An in reinem Sande oder Wasser gewachsenen und dann mit Reinkulturen inficirten Wurzeln fand er zwei Tage später im Zellsaft der Wurzelhaare und Epidermiszellen zahlreiche schwärmende Bakterien, die theilweise wenigstens jedenfalls Knöllchenbakterien waren, wie die weitere Entwicklung lehrte. Einige Tage später fanden sich dann in einigen hirtenstabförmig gekrümmten Wurzelhaaren an der Krümmungsstelle angehäufte Bakterienkolonien, die sich weiterhin mit einer derben, glänzenden Membran umgeben und durch deren Vermittlung mit der Zellmembran des Wurzelhaares verwachsen. Aus dem so ent-

stehenden Knopf wächst dann ein glänzender, mit Bakterien erfüllter Schlauch gegen die Basis des Wurzelhaares hin, dann in die zugehörige Epidermiszelle hinein und verbreitert sich an deren gegenüberliegenden Wand, durchwächst diese dann mit verjüngter Spitze, dringt in die Rindenzellen ein und verzweigt sich in der Tiefe der Rinde reich. Diese Verzweigungen sind die von den bisherigen Autoren als Plasmodienstränge, Pilzhyphen oder Differenzirungen des Leguminosenplasmas aufgefassten Bildungen. Diese im intakten Zustande glänzend und homogen aussehenden Schläuche lassen schon beim Liegen in Wasser eine derbe, an der Spitze der Schläuche und deren blasenförmigen Auftreibungen indessen sehr dünne Membran und als Inhalt zahlreiche Bakterien erkennen. In einer Lösung von gleichen Theilen Fuchsin und Methylviolett in einprocentiger Essigsäure wird der Bau und Verlauf der erwähnten Schläuche besonders deutlich, weil sich deren Inhalt dann roth, Inhalt und Membran der Knöllchenzellen blau färben, während die Schlauchmembranen farblos bleiben. Diese Schlauchmembranen hält Verf. für Hüllen, mit denen sich die Kolonien des Bacterium radicicola zum Schutz gegen die Einwirkungen des Leguminosenplasmas umgeben und dass die Schlauchmembranen keine Bildung der Leguminose selbst sind; er folgert dies daraus, dass diese Membranen angeblich keine Cellulosereaktion zeigen (vergl. aber Koch S. 129) und dass die Schläuche die Knöllchenzellmembranen durchbohren und theilweise chemisch verändern. In Kulturen in freiem Zustande bildet B. radicicola freilich höchstens sehr zarte Membranen, es kann sich aber in dieser Beziehung im Innern der Pflanze anders verhalten. In dem Maasse wie nun weiter die Bakterienschläuche in die tieferen Rindenschichten eindringen, vermehren die ihnen benachbarten und besonders die vor ihnen liegenden Zellen der 4-5 innersten Rindenschichten ihr Plasma, theilen sich und bilden so die Grundlage des späteren Knöllchens als ein schliesslich gleichmässig dünnwandiges, kleinzelliges, mit dichtem Plasma erfülltes Meristem. Die im Centrum dieser Knöllchenanlage liegenden Zellen werden merklich grösser wie die benachbarten und bilden sich zum Bakteroidengewebe um. Indem wir bezüglich der weiteren Entwicklung der übrigen Gewebe der Knöllchen auf das Original verweisen müssen, können wir hier nur kurz die Angaben des Verf. über die Ausbildung des Bakteroidengewebes referiren. Die Zellen dieses Gewebes wachsen heran, runden sich gegen einander ab und bekommen Vakuolen. Gleichzeitig nehmen die darin enthaltenen Bakterienschläuche an Dicke zu und schwellen zu Blasen an. Plasma und Umgebung des Kernes der Zellen zeigen in frischen Präparaten denselben starken Lichtglanz, wie die Bakterienschläuche, derselbe schwindet aber bald in reinem Wasser

und der Zellinhalt erscheint dann körnig. Eingestreut zwischen die so beschaffenen Zellen liegen andere, dunkle, stark körnige Zellen, aus denen sich beim Oeffnen ein plasmatischer Schleim ergiesst, in dem Massen von einfach stäbchenförmigen Bakterien schweben. Auf Grund dieser und anderer Beobachtungen kommt Verf. zu dem Schluss, dass die zarten Membranen der erwähnten Bakterienschlauchblasen und theilweise die Schlauchmembranen selbst unter der Einwirkung des Zellplasmas sich lösen, wie sie dies schon in Wasser thun, und so die in den Blasen und Schläuchen enthaltenen Bakterien in den Zellinhalt gelangen. Sie bewahren hier noch eine Zeit lang ihre einfache Form und Vermehrungsfähigkeit, büssen beide aber bald ein, verzweigen sich gabelig und werden so zu den Bakteroiden der früheren Autoren. Dagegen behalten die in den nicht aufgelösten Schläuchen verbleibenden Bakterien dauernd ihre Form und Vermehrungsfähigkeit. Der Angabe von Beijerinck, dass die Bakteroiden in den normalen Entwicklungskreis von B. radicicola gehören, kann Verf. nicht zustimmen, da er sie selbst in 10 Monate alten Kulturen nicht finden kann, worin stets nur einfache Stäbchen enthalten waren. Es gelang ihm andererseits an direkt aus Erbsenknöllchen entnommenem Material die Entwicklung der Bakteroiden während sechsstündiger Beobachtungsdauer festzustellen. Er bildet ab, wie ein von einem verzweigten Bakteroid abgegliedertes, einfaches Stäbchen einen kurzen seitlichen Ast treibt, der sich aber ebensowenig wie der Theil des Mutterstäbchens, an dem er entstanden ist, weiter entwickelt. Hiernach und weil, wie bemerkt, die Bakteroiden schliesslich ihre Vermehrungsfähigkeit ganz verlieren, fasst Verf. dieselben als Involutionsformen auf. Im Verlaufe der weiteren Veränderung der Bakteroiden treten in ihrem Inhalte stark lichtbrechende Körperchen (vergl. Beijerinck's Bläschenbakteroiden) auf, die sich nicht wie die normalen Bakterien mit Methylviolett färben und ebenfalls abweichend von diesen sich in Schwefelsäure unter besonders bei Zuckerzusatz auftretender rosenrother Färbung leicht lösen und sich mit Jod intensiv rothbraun färben, also die Reaktionen pflanzlicher Eiweissstoffe geben. Der Verf. schliesst hieraus, dass die Knöllchenbakterien unter dem Einfluss der Wirthspflanze eine Reihe von successiven Veränderungen erleiden, welche mit einem Wechsel der Gestalt und Abschwächung der Vegetationskraft beginnen und mit einer vollständigen Degeneration und Umwandlung der Bakterienkörper in besondere Eiweisssubstanzen abschliessen. Ref. möchte hier indessen bemerken, dass ähnliche Inhaltsveränderungen, wie bei den Bakteroiden, auch bei Gährungsbakterien in todtem, organischen Substrat vielfach vorkommen.

Für die Herstellung von Reinkulturen werden am besten junge,

noch nicht fleischrothe, oder alte Knöllchen mit grünlichgrauem Bakteroidengewebe verwendet, weil in beiden fast nur in Nährlösungen bald schwärmende Bakterien vorhanden sind, während die voll ausgebildeten Knöllchen mit fleischrothem Bakteroidengewebe ausser nicht mehr vermehrungsfähigen Bakteroiden nur im Meristem und den Schläuchen Bakterien führen.

Aus den vereinzelten Beobachtungen des Verf. über Knöllchenbildung anderer Leguminosen sei nur erwähnt, dass er bei Lupinus, bei welcher Gattung bisher nie Bakterienschläuche gefunden wurden, theils in der Knöllchenrinde dicke glänzende Bakterienschläuche (Lupinus perennis), theils an die erwähnten Blasen erinnernde Gebilde (L. luteus und angustifolius) fand. In voll entwickeltem, fleischrothen Bakteroidengewebe sind die Zellen entweder mit Bakteroiden scheinbar ganz gefüllt, oder es ist daneben der Zellkern noch sichtbar oder die Bakteroiden sammt Plasma umgeben einen Zellsaftraum. In Zellen der letzteren Art findet als erstes Anzeichen der beginnenden Auflösung der Bakteroiden die schon von Beijerinck und Vuillemin richtig gedeutete netzartige Anordnung der Bakteroiden statt. Während des durch grünlichgraue Farbe des Bakteroidengewebes gekennzeichneten Entleerungsstadiums verschwinden Bakteroiden und Plasma aus den Zellen, in denen ausser Zellsaft nur die intakten Bakterienschläuche übrig bleiben, die dann von Neuem zu die Zellen fast erfüllenden kugeligen Blasen auswachsen, die im Innern eine von sehr langsam verquellendem Schleim zusammengehaltene Menge von Bakterien führen, die auf künstlichen Nährböden zu kräftigen Kolonien auswachsen.

Aus den mitgetheilten Beobachtungen zieht Verf. den Schluss, dass die Knöllchen weder normale noch krankhafte Bildungen der Leguminosenwurzel sind; sie werden vielmehr auf dem Wege äusserer Infektion durch spezifische Bakterien hervorgebracht. Das Verhältniss der Bakterien zur Leguminosenpflanze stellt sich Verf. hierbei folgendermassen vor. Wenn die eingedrungenen Bakterienschläuche die vor ihnen liegenden Zellen zur Plasmaanhäufung veranlasst haben, so werden die Schläuche wohl durch dies reichliche Plasma zu stärkerer Verzweigung und die in ihnen enthaltenen Bakterien zu kräftiger Vermehrung angeregt. Hiermit hält aber die Ausbildung der schützenden Hüllen nicht gleichen Schritt und deshalb werden die Blasenmembranen aufgelöst, die befreiten Bakterien aber in verwerthbare Eiweisssubstanzen übergeführt und vom Zellplasma gelöst. Die nach dieser Entleerung sich wieder vermehrenden Bakterien der Schläuche gelangen, da die Pflanzen meist schon reif sind, durch Fäulniss der Knöllchen in den Boden. Hiernach ist die Leguminose der stärkere Theil, das Eindringen der Bakterien ist aber von Nutzen für die Pflanze, sie

sind also keine Parasiten. Dementsprechend begünstigt die Pflanze zunächst die Vermehrung der Bakterien, stört sie Anfangs nicht in der Hüllenbildung, sorgt auch für kräftige Entwicklung des Bakteroidengewebes und Anlage eines Meristems an der Knöllchenspitze. Die Bakterien ihrerseits haben von diesem Zusammenleben mit der Leguminose den Nutzen, dass sie nach der Entleerung sich reichlich vermehren und massenhaft in den Boden gelangen. Bei dieser eigenartigen Symbiose wird also der eine Theil vom anderen als Nahrung aufgenommen. Dementsprechend hat auch die Pflanze das für sie werthvolle Bakteroidengewebe in die Mitte des Knöllchens gelegt, mit schützender Korkhülle umgeben, zur Hinleitung und Wegführung der Nahrung Gefässbündel in die Knöllchenrinde gelegt, zur Erleichterung der Wegführung der durch Entleerung des Bakteroidengewebes gewonnenen Eiweissstoffe die Zellwände dieses Gewebes sehr dünn konstruirt und die erwähnten Rindenbündel so orientirt, dass sie das Phloem auf der Innenseite, das Xylem auf der Aussenseite haben. Stärke wird als Baustoff für die Bakterienvermehrung vorübergehend in der Umgebung und im Innern des Bakteroidengewebes gespeichert; freilich zwingt zu dieser Annahme nicht die Beobachtung, dass die Bakterien die corrodirten Stärkekörner umlagern oder in dieselben eindringen.

Im zweiten Theile seiner Arbeit beschreibt Verf. physiologische Versuche znr Ermittlung der Bedeutung der Bakteriensymbiose für die Leguminosen.

Da nach Berthelot Stickstoffbindung im Boden unter dem Einfluss von kleinen Organismen vor sich gehen und dies auf die Pflanzenentwicklung von Einfluss sein kann, so musste in diesen Versuchen Boden und Wurzeln während der ganzen Lebensdauer der Leguminosen frei von allen Bakterien ausser den absichtlich eingesäten Knöllchenbakterien gehalten werden und Verf. löste diese schwierige Aufgabe durch Verwendung von unten glasirten Thontöpfen, in deren fest schliessenden Deckel Glasröhren zur Einführung von sterilisirter Luft und Wasser eingekittet waren. Der mit reinem Flusssand gefüllte Topf wurde trocken sterilisirt, mit sterilisirter Nährlösung begossen und dann der durch Sublimat, Alkohol und Abbrennen gereinigte Erbsensame durch ein mittleres, auch für den Durchtritt des Stengels dienendes Loch eingeführt. Alle Verbindungen wurden mit einem Gemisch aus Wachs und Talg, die Umgebung des Stengels mit Watte, Wachsleinewand und Stanniol gedichtet. Der Sand wurde ein- bis zweimal täglich durch mit Wasserdruck eingetriebene, durch Watte und Chlorcalcium sterilisirte Luft gelüftet. In der angegebenen Weise wurden zwei Versuchsserien angestellt, in deren einer zwei Töpfen

eine salpetersauren Kalk enthaltende Nährlösung, drei anderen stickstofffreie Lösung zugesetzt wurde. Von ersteren wurde ein, von letzteren zwei Töpfe mit in stickstofffreier Lösung erzogenen Reinkulturen von Knöllchenbakterien inficirt. Die Vegetationsperiode der Versuchspflanzen dauerte 75 Tage; am Schlusse ergab sich, dass nur die inficirten Pflanzen Knöllchen bekommen hatten und dass die Töpfe, wie Kulturversuche zeigten, frei von sonstigen Bakterien geblieben waren; nur in zwei Töpfe hatten sich Schimmelpilze eingeschlichen. Die Ernte wurde untersucht in Bezug auf Länge der oberirdischen Theile, Lufttrockengewicht, Trockensubstanz, Stickstoffgehalt aller Theile, Anzahl der Früchte und Samen. Es zeigte sich, dass die Infektion mit Knöllchenbakterien überall eine gute Wirkung gehabt hatte. Von den beiden mit Stickstoffnahrung versehenen Pflanzen weist die inficirte eine Mehrproduktion von 1,68 g Trockensubstanz und einen Mehrgehalt von 68 mg Gesammtstickstoff gegenüber der nicht inficirten auf; auch der relative Stickstoffgehalt der inficirten Pflanze ist höher. Von den Pflanzen, denen Stickstoff im Boden nicht gegeben wurde, ist die nicht inficirte beinahe produktionslos geblieben, insofern die Trockensubstanz des Samens nicht einmal auf das Doppelte vermehrt war; der Stickstoffgehalt der Pflanze war nicht vermehrt, sondern sogar etwas kleiner geworden. Dagegen vermehrten die beiden inficirten Pflanzen die Trockensubstanz des Samens 11 resp. 8 Mal und ihr Stickstoffgehalt stieg von 9 mg im Samen auf 58,3 resp. 39,7 mg. Wenn das Wachsthum dieser Pflanzen während der Keimungsperiode nicht gestört gewesen wäre, würde der Stickstoffgewinn wohl noch höher ausgefallen sein. Eine zweite Serie von solchen Versuchen ergab dasselbe Resultat, trotzdem in diese Kulturen fremde Bakterien eingedrungen waren und ebenfalls dasselbe Resultat zeigte eine Reihe von Wasserkulturen, in welchen Erbsen wuchsen, die in sterilem mit Knöllchenbakterien inficirtem Sande gekeimt hatten und die in den Wasserkulturen noch viermal in Intervallen inficirt wurden.

Aus den in diesen Serien enthaltenen Versuchen mit stickstofffreiem Nährsubstrat folgt also, dass die von den inficirten Pflanzen gespeicherte Stickstoffmenge nur aus der Atmosphäre stammen kann und dass die Erbsen zu dieser Aufnahme dieses Stickstoffs nur durch die Knöllchenbakterien befähigt werden. Wurzelknöllchen sind also Organe der Assimilation atmosphärischen Stickstoffs. Diese Versuche des Verf. zeigen noch nicht, ob die Leguminosen die Stickstoffverbindungen oder den freien Stickstoff der Atmosphäre assimiliren; Verf. glaubt aber nicht, dass die in den mit Korkhülle versehenen Knöllchen befindlichen Bakterien besonders stark Luftammoniak aufnehmen, welcher Körper auch von anderen Pflanzen assimilirt wird. Anderer-

seits zeigte schon HELLRIEGEL, dass knöllchentragende Leguminosen aus einer von Stickstoffverbindungen fast völlig freien Atmosphäre freien Stickstoff aufnehmen.

Wie der Prozess dieser Stickstoffassimilation des Näheren verläuft, darüber stellt Verf. verschiedene Hypothesen auf, von denen er die für die wahrscheinlichste hält, wonach die Bakterien den freien Stickstoff binden und die Leguminosen den in der Körpersubstanz der Bakterien niedergelegten Stickstoff durch Auflösung der Bakteroiden sich aneignen. Hierfür spricht einmal die Art des Verschwindens des von Vielen beobachteten Schwächezustandes der in mit Knöllchenbakterien inficirten Boden wachsenden Pflanzen. Dieser Schwächezustand beginnt bald nach dem Aufgehen der Samen und ist dadurch bedingt, dass zu dieser Zeit die Pflanzen nur aus den Samenreservestoffen sich ernähren und einen beträchtlichen Theil davon zur Ausbildung der Knöllchen hergeben müssen. Diese Schwäche hört auf, sobald die Bakterien der ältesten Knöllchen so weit sind, dass die Pflanze sie auflösen kann und dieser Resorptionsprozess ist die nächste Ursache für das kräftigere Wachsthum der Pflanze. Ebenso spricht der Vergleich des Verhaltens inficirter Pflanzen in stickstoffhaltigem und stickstofffreiem Boden für jene Hypothese. Ausserdem ist hierfür anzuführen der Stickstoffreichthum der Wurzelknöllchen, die Ablagerung der Hauptmasse des Stickstoffs der Knöllchen in Form von Bakteroiden, die Ueberführung der Bakterien in für die Leguminose leicht verwendbare Eiweisssubstanzen. Sicher begründen würde jene Hypothese der Nachweis, dass die Knöllchenbakterien auch ausserhalb der Leguminose freien Stickstoff aufnehmen und Verf. schliesst aus vorläufigen Versuchen[1], dass sie hierzu bei Mangel anderer günstiger Stickstoffnahrung in beschränktem Masse im Stande sein dürften.

Die nach Abschluss dieser Arbeit erschienene vorläufige Mittheilung von FRANK (vergl. auch Ref. S. 120 über die ausführliche Darstellung derselben Untersuchungen) vertritt wesentlich andere Ansichten wie PRAZMOWSKI; letzterer erklärt aber am Schlusse der vorliegenden Arbeit, dass er an seinen Resultaten festhalte. Vergleichenden, sehr wünschenswerthen Nachuntersuchungen muss es vorbehalten bleiben, die Gründe der Abweichungen der Resultate beider Autoren aufzudecken.

Aus dem Mitgetheilten wird hervorgehen, dass die hier besprochene Arbeit von PRAZMOWSKI das Aufsehen, welches sie erregt hat, in vollem Masse verdient und zwar einmal durch den hier zuerst gebrachten Nachweis, dass die aus den Knöllchen zu isolirenden Bakterien die Ursache dieser Bildungen sind, dann durch den Versuch

---

[1]) Vergl. BEIJERINCK: Bot. Zeitg. 1888.

einer Schilderung der Schicksale dieser Bakterien. Die besonders wichtigen mit Reinkulturen ausgeführten Infektionsversuche haben auch die wichtige Möglichkeit gezeigt, Pflanzen zeitlebens frei von Bakterien zu kultiviren, was zur Prüfung der Behauptungen, dass Bodenbakterien von wesentlicher Bedeutung für das Gedeihen der Pflanzen seien, dienen kann. Wie schon der Verf. selbst treffend bemerkt, ist es eine Hauptaufgabe weiterer Forschung, das Verhalten der Knöllchenbakterien zum freien Stickstoff ausserhalb der Leguminose zu studiren.

Kurze Zeit nach der vorstehend besprochenen Arbeit von Prazmowski erschien diese ebenfalls sehr ausführliche Arbeit von **Frank** (175) über den gleichen Gegenstand, die aber zu gänzlich anderen Resultaten führte, welche kurz schon in den Ber. d. bot. Gesellschaft 1889 publicirt und deshalb auch von Prazmowski, wie oben erwähnt, kritisirt wurden.

Der Verf. bestätigt zunächst, dass Lupinen und Erbsen in mehrere Stunden erhitztem Boden keine Knöllchen bekommen, wohl aber dann, wenn solcher Boden oder reiner mit Nährsalzen versehener Quarzsand mit einer kleinen Menge frischen Bodens versetzt wurden oder wenn der aus den Knöllchen mittelst Gelatine isolirte Organismus zu Erbsenwasserkulturen gesetzt wurde. Es fragt sich nun, wie der knöllchenerzeugende Organismus in die Pflanzen eindringt. Bei der Erbse findet Verf. in jeder Knöllchenanlage ein von einem Wurzelhaar ausgehendes fadenförmiges Gebilde, welches die Rindenzellen sich mehrfach verzweigend durchsetzt und im Protoplasma tief im Innern liegender Rindenzellen oft ohne scharfe Grenze endigt, diese zu erheblicher Vermehrung ihres Plasmas, zur Veränderung ihres Zellkernes zu einer klumpenförmigen, homogenen, glänzenden Masse und zu lebhaften Theilungen veranlasst und diese Rindenelemente so zu Mutterzellen der Knöllchen umgestaltet. Dieses fadenförmige Gebilde nennt Verf. daher Infektionsfaden. Auf solche Weise bilden sich die Knöllchenanlagen wohl bei den meisten Leguminosen, bei anderen aber, wie bei Lupinus und Phaseolus findet man nur äusserst selten einen Infektionsfaden. Bei Lupinus liegen die mit Plasma erfüllten Knöllchenmutterzellen dicht unter der Epidermis und in den direkt über ihnen befindlichen Zellen dieser Epidermis findet sich dieselbe aus Bakterien bestehende Substanz, die auch in den Wurzelhaaren, wo der Infektionsfaden seinen Ausgang nimmt, auftritt. Manchmal wachsen auch die Rindenzellen, die Epidermiszellen beiseite schiebend, nach aussen und holen sich den im Boden befindlichen Infektionsstoff direkt; auf ihrem Scheitel will Verf. dann die nämliche Bakterienmasse wiedererkannt haben, die sonst in den Wurzelhaaren oder Epidermiszellen sich findet. Bei Phaseolus

strecken sich Epidermiszellen radial stark, auf deren Scheitel wiederum die erwähnte Bakterienmasse liegen soll, und übertragen auch die Infektion auf direkt darunter liegende Rindenzellen.

Welches ist nun der eigentlich infizirende Organismus? Die Bakteroiden können es nicht sein, denn sie sind zur Zeit der Infektion noch nicht sichtbar, der Infektionsfaden muss vielmehr dieser Organismus sein oder denselben beherbergen. Die Verzweigungen dieses Fadens im Meristem der Knöllchenanfänge gehen in das eigenthümlich veränderte Plasma dieser Zellen über, stimmen optisch und chemisch damit in der Hauptsache überein. In diesem Plasma sowohl wie in den Fäden werden aber beim Absterben der Zellen oder bei Einwirkung von Reagentien mikrokokkenartige Elemente sichtbar, die als der eigentliche Symbioseorganismus, der die Knöllchenbildung veranlasst, aufzufassen sind. Verf. fand denselben auch schon vor der Infektion, wie bemerkt, an der Aussenseite der Wurzelzellen von Lupinus und Phaseolus und aussen an den Wurzelhaaren von Pisum, da wo inwendig der Infektionsfaden seinen Anfang nahm; an anderen Stellen der Wurzel konnte er ihn nicht nachweisen. Das diese mikrokokkenartigen Elemente führende Zellplasma fasst er als ein Gemisch von Pilz und Phanerogamenplasma auf und bezeichnet es als Mykoplasma. Den, wie bemerkt, in seinen Eigenschaften diesem Mykoplasma sehr ähnlichen Infektionsfaden hält er für einen von der Leguminose aus dem Zellprotoplasma aufgebauten Leiter, durch welchen die Pflanze den Symbioseorganismus zu den Zellen führt, wo er sich entwickeln soll und der bei Lupinus und Phaseolus nicht nöthig ist und fehlt, weil das Plasma der äusseren Rindenzellen hier direkt die Infektion empfängt. Das Hindurchdringen des Symbioseorganismus durch die Aussenmembran der Wurzelhaare oder Epidermiszellen ist nicht direkt zu beobachten aber nach den sonstigen Erfahrungen bei Pilzen leicht vorzustellen. Wohl aber sind jene Mikrokokken an korrespondirenden Stellen ausserhalb und innerhalb der Wurzelzellmembran zu finden. Im Innern der inficirten Wurzelhaare werden die massenhaft die Spitze derselben erfüllenden Kokken von reichlicher werdendem Plasma eingehüllt und von hier aus entwickelt sich der Infektionsfaden, indem er sich an seiner Spitze durch allmähliche Ansammlung des Wurzelhaarplasmas zu konstituiren schien, welches sich in einer die Richtung des Fadens fortsetzenden Partie ansammelte, worin nach und nach die eigenthümliche stärkere Lichtbrechung des Infektionsfadens hervortrat. Den im Knöllchenmeristem verlaufenden Zweigen dieses Infektionsfadens soll nach Verf. meist eine Cellulosemembran fehlen; nur gelegentlich soll eine in einer von einem Infektionsfaden durchzogenen Zelle neu auftretende Scheidewand auch den Faden mit einer Celluloseschelde überziehen. (Vergl. aber Koch

S. 129 und speziell die Angabe, dass der Faden schon im Wurzelhaar Cellulosemembran besitzt.)

Die Leguminosen befördern und dirigiren also die Einwanderung der knöllchenerzeugenden Kokken in verschiedener Weise. Da sie aber auch in Böden, welche nur wenige Keime des Symbioseorganismus enthalten, sicher Knöllchen bekommen, so locken sie sehr wahrscheinlich diese Keime durch chemische Reizwirkung mittelst auf der Aussenfläche der Wurzel ausgeschiedener Stoffe an. Vielleicht ist die Qualität dieser Ausscheidungen örtlich ungleich, wodurch sich dann die planmässige, bei verschiedenen Arten verschiedene Vertheilung der Knöllchen erklären würde.

Der Verf. beschreibt nun die Entstehung der Knöllchenbündel, deren Ansatz an die Wurzelbündel und die Bildung der Korkhülle der Knöllchen und wendet sich dann zur Besprechung der Bakteroiden, bezüglich deren Natur er eine von der der anderen neueren Autoren gänzlich verschiedene Auffassung vertritt. Die Bakteroiden entstehen, indem die Mykoplasma führenden Zellen ihr Plasma vermehren und dann dieses Mykoplasma in eine netzartig angeordnete dichtere und eine die Maschen füllende weniger dichte Substanz sondern. Die später aus dem Verbande frei werdenden Bruchstücke dieses Netzes sind die Bakteroiden, woraus sich ihre bekanntlich oft gabelige Form erklärt. In den Bakteroiden werden nach Einwirkung von Kalilauge reihenweise gelagerte mikrokokkenartige Elemente sichtbar, welche identisch sind mit dem die Knöllchenbildung verursachenden fremden Organismus und welche von Leguminosenplasma umhüllt sind. Die Bakteroiden sind also nicht die Individuen des eingedrungenen Organismus selbst, sondern bestehen aus diesen und der erwähnten Plasmahülle. Letztere wird aber auch bei der Entleerung der Knöllchen allein gelöst, die Pflanze behält also nur ihr eigenes Eiweissgebilde zurück, während die freigewordenen Organismen in den Boden zurückkehren. Demnach besteht also die Hauptmasse von Eiweiss, welche die Knöllchen zur Zeit ihrer grössten Erfüllung enthalten, nicht aus dem eingedrungenen Organismus. Das Freiwerden dieses letzteren aus den Bakteroiden und seine Vermehrung verfolgt Verf. unter dem Mikroskop in Hängetropfen aus verdünnter ziemlich flüssig bleibender Gelatine. In den isolirten Bakteroiden werden in diesen Kulturen zunächst die Einschlüsse von selbst sichtbar, nehmen dann, wenn die Auflösung des Bakteroids weiter vorgeschritten ist, Bewegung an und schwärmen davon. Die Bakteroiden sind 3-5,5 μ lang, die Schwärmer dagegen 0,9-1,3 μ; letztere sind stets unverzweigt, rund oder länglich, eine Cilie konnte Verf. an ihnen nicht nachweisen. Grössere Stücke jüngeren Mykoplasmas, in dem die Bakteroiden noch nicht getrennt sind, zeigen in Hängetropfen

zuerst eine brodelnde Bewegung in Folge der Befreiungsversuche der Schwärmer. Ausser den mehr oder wenig schnellen Schwärmern sieht man im Tropfen auch viele unbewegliche, ebenso gestaltete Individuen liegen. Diese Formen vermehren sich alle durch Einschnürung und Zweitheilung; sie färben sich nur dann gut, wenn man die Farblösung erhitzt. Die beschriebenen Individuen blieben auch manchmal zu Zoogloeen vereinigt, welche an die oben erwähnten Infektionsschläuche erinnerten; es entstanden erst Fäden aus in einfacher Reihe angeordneten Individuen, welche Fäden zu wurstförmigen, aus wimmelnden, 0,2 μ dicken Kokken bestehenden Zoogloeen heranwuchsen. Diese Kokken wuchsen dann wieder zu Stäbchen heran und schwärmten.

Auf makroskopischen Gelatinekulturen bildet dieser Organismus blassgelbliche, später graue bis fast dottergelbe Gallerthäufchen, die die Gelatine etwas zu verflüssigen im Stande sind und meist nur 1 mm, manchmal auch 1 cm Durchmesser erreichen.

Nach dem Gesagten ist der knöllchenerzeugende Organismus ein besonders wegen seiner symbiotischen Verhältnisse sehr eigenartiger Spaltpilz, denn Fälle von unzweifelhaftem Parasitiren solcher Spaltpilze in Pflanzenzellen sind nach Verf. sonst nicht bekannt; er giebt diesem Knöllchenspaltpilz daher wiederum den neuen Namen Rhizobium leguminosarum. Die ausserordentliche Kleinheit dieses Organismus erklärt die Sicherheit, mit der jedes kleinste Krümchen Ackererde an in sterilisirtem Boden erwachsenen Leguminosen Knöllchenbildung erzeugt.

Der Verf. wendet sich nun zu Versuchen über den Einfluss, den das Rhizobium auf die Leguminose ausübt und findet, dass Hellriegel's Hypothese, wonach dieser Spaltpilz die Leguminosen befähige, freien Stickstoff zu assimiliren, der thatsächlichen Complicirtheit der Verhältnisse nicht entspreche, sondern dass in den Erfolgen dieser Symbiose vielmehr Leistungen der Leguminose vorliegen, die durch das Rhizobium nur geweckt und zur Energie gesteigert werden. Die Versuche wurden in Glasgefässen angestellt, die mit dem Boden gefüllt 5-6 Stunden im Dampfsterilisirungsapparate standen, dann mit dem abgewischten Samen besäet und unter Glasdach im Freien gehalten wurden. Im Vergleich zu den Angaben von Prazmowski fand der Verf. also auffallend wenig Vorsichtsmassregeln bei den Kulturen, bei welchen es sich um Fernhaltung von Rhizobium handelte, für nöthig. Der Stickstoff im Boden, Samen und der Ernte wurde durch Verbrennung mit Natronkalk, Ueberführung in Platinsalmiak und Wägung als Platin bestimmt.

Was zunächst Phaseolus multiflorus (Varietät Ilsenburger) anlangt, so erwies sich auffallender Weise die Symbiose hier als bedeutungslos.

Bei Verwendung von so gut wie humuslosem Sandboden, der mit Mergel, Thomasschlacke und Kainit versetzt war, entwickelten sich die

Pflanzen im unsterilisirten, wie im sterilisirten ungeimpften oder mit Boden geimpften Substrat schlecht, während sie im sterilisirten wie im unsterilisirten Humusboden guten Ertrag lieferten. Sie waren also durch den Humus und besonders durch den durch Sterilisiren aufgeschlossenen in einen kräftigen Ernährungszustand gebracht, wodurch auch ihre Fähigkeit freien Stickstoff zu assimiliren, gestärkt wird.

Verf. kommt demnach zu dem Resultat, dass bei Phaseolus das Rhizobium nur als Parasit ernährt wird, ohne einen Gegendienst zu leisten.

Dagegen wird die gelbe Lupine und die Felderbse in humusarmem Boden durch die Symbiose mit dem Rhizobium auffallend begünstigt. Diese Thatsache fand bekanntlich HELLRIEGEL bei seinen Versuchen mit unorganischen Nährsubstraten auch und gründete darauf die Hypothese, dass die in den Knöllchen lebenden Organismen freien Stickstoff für die Leguminosen assimiliren. Verf. findet aber, dass diese Auffassung einseitig ist und dass von einer Begünstigung der Leguminosen durch Pilzsymbiose nur unter bestimmten Bodenverhältnissen die Rede sein kann. Bei seinen Versuchen mit gelben Lupinen und Felderbsen erstens in humuslosem stickstofffreiem oder nitrathaltigem Boden fand er, dass durch die Symbiose 1) das Wachsthum gefördert wird und zwar nicht nur die Wachsthumsgeschwindigkeit, sondern auch die Wachsthumsgrösse, besonders der Stengel und Blattflächen, 2) die Chlorophyllbildung um das 2-3fache vergrössert wird, wie mittelst TSCHIRCH's Methode und auch direkt mikroskopisch nachweisbar ist, 3) die Assimilation an Intensität gewinnt, wie mikroskopisch aus der Menge der im Chlorophyll gebildeten Stärke geschlossen wurde, 4) durch die Symbiose auch die Assimilation von freiem Stickstoff energischer wird, die aber auch bei Ausschluss des Rhizobium nachweisbar ist, bei Erbsen wenigstens in Kulturen in sandigem, humusarmem Lehmboden, nicht aber in reinem Sand, bei der Lupine aber unter beiden Bedingungen. Zum Beispiel betrug der Stickstoffgewinn von Lupinen in leichtem Sandboden ohne Symbiose 0,114 g, mit Symbiose 0,777 g. Dass diese Fähigkeit der Assimilation von freiem Stickstoff überhaupt eine allgemeine Eigenschaft der Pflanzen sei, wie die viel ausgiebigere Kohlenstoffassimilation auch, hat Verf. im Gegensatz zur herrschenden Meinung schon früher behauptet und führt einige neue Versuche mit Hafer, Raps und kleinen grünen Algen zur Stütze seiner Behauptung an. Näheres über den Modus dieser Stickstoffassimilation ist derzeit nicht anzugeben.

Aus dem Gesagten ergiebt sich schon, dass durch die Symbiose die Gesammtproduktion der Erbsen und Lupinen gesteigert werden muss. Verf. bestätigt dies auch noch durch einen Feldversuch mit

Lupinen auf gemergeltem Sandboden, der vorher mit Gebäuden bestanden gewesen war. Er zog die Pflanzen bis fast zur Blüthe, hob sie aus, sonderte sie in knöllchentragende und knöllchenfreie und pflanzte sie wieder ein. Bei der Ernte ergaben 15 knöllchenfreie Pflanzen 143,5 g, 15 knöllchentragende 259,6 g Trockengewicht.

Auf Grund seiner oben erwähnten Anschauungen fasst Verf. die Knöllchen als Mycocecidien, als Pilzgallen auf, also als von der Leguminose gebildete und gut ernährte Organe, in denen das Rhizobium sich lebhaft vermehrt. Das Rhizobium soll aber nicht allein in den Knöllchenzellen vorkommen, denn der Verf. bestätigt Beijerinck's Angabe von dem Auftreten der Bakteroiden in gewöhnlichen Wurzelzellen und fügt hinzu, dass er solche auch in allen oberirdischen Organen von Lupinen, Erbsen und Buschbohnen in nicht angeschnittenen Zellen gesehen und an ihrer charakteristischen Y-förmigen oder dreistrahligen Gestalt erkannt habe. Bei Lupine und Erbse fand er sie reichlich in den Wurzelrindeparenchymzellen, spärlicher in den Parenchymzellen der Rinde und des Markes der ganzen Stengel und Blattstiele; sie fehlten dagegen in den Blättern, Früchten und Samen. Andererseits waren sie aber bei der Buschbohne auch in engen Parenchymzellen der Fruchtschalen und in den jungen Cotyledonen nachzuweisen, wonach Verf. seine auffallende Beobachtung erklärt findet, dass die Buschbohne auch in sterilisirtem Boden Knöllchen bekommt. Dagegen waren die oberirdischen Theile von in sterilisirtem Boden erwachsenen Leguminosen stets frei von den beschriebenen Gebilden.

Demnach nimmt Verf. eine Totalinfektion des ganzen Leguminosenkörpers mit dem Rhizobium an, wodurch sich die Einwirkung des letzteren auf viele Lebenskräfte der Leguminose leichter erklären würde.

Der Verf. wendet sich weiter zu der Frage, wo das in den Knöllchen sich sammelnde Eiweiss herstammt und findet, dass dasselbe wahrscheinlich in den Knöllchen aus der in deren jüngeren Theilen reichlich enthaltenen Stärke und Asparagin entsteht. Letzteres wies Verf. in Wurzeln, Knöllchen, Stengeln und Blättern von blühenden, in stickstofffreiem Boden erzogenen Erbsen und Lupinen nach, indem er es durch Alkohol auskrystallisiren liess. Das reichliche Vorkommen dieses Körpers in ausgewachsenen Blättern, die keinen Bedarf daran haben, spricht nach Verf. dafür, dass er hier aus freiem, atmosphärischem Stickstoff gebildet wird. Ausser Stärke und Asparagin sind zur Eiweissbildung auch phosphorsaure, sowie schwefelsaure Salze und Kali nöthig. Phosphorsäure und Kali sind nun thatsächlich reichlich in den Knöllchen vorhanden. Die Eiweissbildung zeigt sich in den Knöllchen zuerst an der Vermehrung des Leguminosenplasma und in Fortsetzung dieses Prozesses krystallisiren dann gewissermassen die Bakteroiden aus dem

Mykoplasma aus. Verf. hält also HELLRIEGEL's Hypothese von der Assimilation des elementaren Stickstoffs durch das Rhizobium für hinfällig; auch konnte Verf. im Anschluss an BEIJERINCK's ausgedehntere Versuche über diesen Gegenstand das Rhizobium auf stickstofffreien Nährböden nicht zur Entwicklung bringen.

Die physiologische Bedeutung der Eiweissansammlung in den Knöllchen ist wohl mehr eine indirekte. Das Knöllchen- resp. Bakteroideneiweiss wird nur beihilfsweise bei der Fruchtbildung verwendet. Hauptzweck der Infektion mit dem Rhizobium ist die erwähnte Stärkung der Lebensenergieen und in diesem Sinne sind die Knöllchen als Brutstätten des Rhizobiums für das Leguminosengeschlecht indirekt und umgekehrt für das Rhizobium selbst von Bedeutung. Sie sind dann aber doch keine Luxusbildungen der Leguminosen, wie Verf. sie nennt. Verf. stellte auch noch verschiedene Versuche über die Beziehungen der Knöllchen zur Pflanze an, aus deren Resultaten hier erwähnt sei, dass an verdunkelten Pflanzen nur Meristemzellgruppen mit Mykoplasma und Bakteroidenfängen entstehen, dass aber eine fernere Ausbildung der Knöllchen und Bakteroiden unterbleibt, woraus die Abhängigkeit der Ernährung des Rhizobium von der Leguminose erhellt.

In Vergleich zu den erwähnten Resultaten der Kulturversuche in humusarmen Böden, entwickeln sich Lupinen und Erbsen in sterilisirten humusreichen Böden nicht schwächlicher, als in unsterilisirten, vielmehr in Folge der aufschliessenden Kraft des sterilisirenden Wasserdampfes noch etwas kräftiger. Der Impuls auf die Lebenskräfte der Leguminose, der sonst aus der Symbiose entspringt, deckt sich mit der Wirkung, welche die Humusernährung schon an und für sich hervorbringt. Die Wirkung der Symbiose ist also in Humusböden entbehrlich und das Rhizobium, welches mit seinem Symbionten gemeinsam fühlt und schafft, stumpft hier die unnöthige Reizwirkung ab. Dies wird auffallend dadurch demonstrirt, dass die Knöllchen der gelben Lupine in Moorboden nur die Grösse von Pfefferkörnern, in armen Sandböden die von kleinen Kartoffeln erreichen. Die Symbiose der Leguminosen mit dem Rhizobium ist also ein für gewisse Fälle vorgesehenes Hülfsmittel, sie treibt auf humusarmem Boden die Assimilation der unorganischen kohlen- und stickstoffliefernden Nährstoffe der Leguminose so an, dass sie den Bedürfnissen genügt. Das Rhizobium handelt hierbei aber nicht selbstlos, sondern zwingt, wie andere gallenerzeugende Parasiten, die Leguminose, soviel organische Substanz zu bilden, dass auch der Gast gut ernährt wird.

Die Meinung HELLRIEGEL's, dass die verschiedenen Leguminosenformen mit verschiedenen Rhizobiumformen lebten, hält Verf. für unwahrscheinlich und bemerkt, wie wenig die verschiedenen Formen der

Bakteroiden in dieser Beziehung beweisen, wenn man an die verschiedene Form der Stärke bei verschiedenen Pflanzen denke. Für die Ansicht des Verf. spricht, dass die aus Erbsen und aus Lupinen erhaltenen Rhizobiumformen, wie auch deren Gelatinekulturen, keine Verschiedenheit in Form und Aussehen zeigten und dass durch Impfung eines mit Lupinen besäeten sterilisirten Sandbodens mit sehr kleinen Mengen Sand- und Moorboden, auf denen Leguminosen in erheblicher Menge bisher nicht gewachsen waren, an jenen Lupinen Knöllchen erzeugt wurden.

In mehr praktischer Beziehung folgt aus dem Gesagten, dass nur auf sehr humusarmen Böden die Symbiose für die Leguminosen unentbehrlich, entbehrlich aber bei Gegenwart von Humus und auch wohl von animalischem Dünger sein wird. Nur in wenigen jener sehr humusarmen Böden werden Rhizobium-Keime in ungenügender Menge für eine ausreichende Infektion der in diesen Böden zu kultivirenden Leguminosen vorhanden sein; man wird hier durch Impfung mit geeignetem Boden und nachfolgende einmalige Leguminosenkultur immer helfen können,

Auf sehr dürftigem Boden werden also gewisse Leguminosen mit Hülfe des durch die Symbiose mit dem Rhizobium erhaltenen Impulses stickstoffanreichernd, auf besserem Boden aber alle Pflanzen wenigstens stickstofferhaltend je nach der spezifischen Energie ihrer Stickstoffassimilation wirken.

Frank (176). Keimpflanzen von Robinia, die 125 Tage lang in sterilisirtem stickstofffreiem, mit einer sehr kleinen Menge Sandboden geimpften Boden gewachsen waren, hatten den Stickstoffgehalt der Samen um das 38fache vermehrt. In die sterilisirten, nicht geimpften Controllkulturen schlich sich das Rhizobium gegen den Willen des Verf. ein.

Im Anschluss an Frank's Anschauung, dass alle Pflanzen im Stande seien, freien Stickstoff zu assimiliren (siehe S. 120 u. 127) untersuchen **Frank** und **Otto** (177) erstens, wie die grünen Blätter etwa an diesem Prozess betheiligt seien. Sie finden, wie schon Frank (Ref. S. 125), dass ausgewachsene Blätter von Trifolium pratense, Robinia Pseudacacia, Carum carvi auffallend viel Asparagin enthalten, welches wohl da entstanden sein muss, da solche Blätter keinen Bedarf an Baumaterial mehr haben. Wie die Anhäufung von Assimilationsstärke, so zeigt auch der Stickstoffgehalt der Blätter eine tägliche Periodicität; die Verf. fanden die Blätter von Leguminosen und von Brassica, Cannabis, Vitis, Carum Abends stickstoffreicher als am nächsten Morgen (Medicago Abends 4,382 Gesammtstickstoff in Procenten der Trockensubstanz, Morgens 2,906, Cannabis ebenso 3,794 zu 2,961) und

in einem Versuche mit Trifoliumblättern zeigen sie, dass dieser Periodicität eine solche im Asparagingehalt parallel geht (0,973$^0/_0$ Abends, 0,277$^0/_0$ Morgens). Es ist unwahrscheinlich, dass die Blätter diesen Stickstoff aus der Salpetersäure des Bodens beziehen, weil Salpetersäure in den Blättern der meisten der erwähnten Versuchspflanzen höchstens spurenweise vorkam. Vorläufige Versuche mit abgeschnittenen Blättern ergaben ausserdem auch geringe Stickstoffanreicherung während des Tages.

In Hinblick auf Hellriegel's Hypothese der Stickstoffassimilation durch den symbiotischen Knöllchenorganismus züchten Verf. das Rhizobium in Reinkulturen. Das Rhizobium wuchs gut in Asparagin und Rohrzucker, schwächer in Asparagin, konnte sich aber sehr langsam auch in Lösungen von Trauben- oder Rohrzucker immer wie auch oben unter Zusatz stickstofffreier Mineralsalze auf Kosten des Luftstickstoffs vermehren. Dieses sehr langsame Wachsthum beweist aber nicht, dass das Rhizobium die Stickstoffassimilation der Leguminosen vollzieht.

Beijerinck (170) erzeugte an in sterilem Flusssande gezogenen Pflanzen von Vicia Faba durch Infektion mit den aus Fabaknöllchen gezüchteten Bakterien Knöllchen, wodurch also auch er den Beweis führte, dass die von ihm zuerst isolirten Knöllchenbakterien die Ursache der Knöllchenbildung sind. Die Versuchstöpfe waren mit Deckeln versehen und so konstruirt, dass sie ohne Gefahr einer unbeabsichtigten Infektion mit Nährsalzlösung gegossen werden konnten. Knöllchenbildung trat ein, gleichgültig ob in dieser Lösung Calciumnitrat oder Ammoniumsulfat vorhanden war oder fehlte. Im Anschluss hieran bemerkt Verf., dass keine Rede von einer allgemeinen Durchdringung der Fabapflanze mit B. radicicola sein könne, sondern letzterer nur da vorkomme, wo Bakteroiden gefunden würden. Erneute Ernährungsversuche mit dem genannten Bacillus lehrten, dass derselbe ausserhalb der Leguminose keinen freien Stickstoff bindet, wohl aber bei Gegenwart gewisser Kohlehydrate auch die geringsten Spuren gebundenen Stickstoffs in seiner Körpersubstanz festlegt. Diese Eigenschaft erscheint dem Verf. wichtig für die Erklärung der Bedeutung dieses Bacillus in den Knöllchen. Derselbe häuft dort allen gebundenen Stickstoff aus der Umgebung als Reserveeiweiss an. Dem Verf. ist auch noch eine frei im Boden lebende Streptothrix bekannt, die ebenso wie die Knöllchenbakterien allen gebundenen Stickstoff an sich reisst. B. radicicola wächst nicht bei fehlender organischer Nahrung und bildet weder Nitrate noch Nitrite. Verf. glaubt im Gegensatz zu Frank, dass die Knöllchenbakterien verschiedener Leguminosen erheblich verschieden sind. An Vicia Faba konnte er durch Infektion mit

Bakterien aus Ornithopusknöllchen keine Knöllchen erzeugen und Ornithopus sativus blieb in Gärten stets frei von Knöllchen, auch wenn er zwischen Vicia stand.

Laurent (184) hat bei der Erbse Knöllchenbildung durch Impfung mit Knöllcheninhalt von mehr als dreissig Leguminosenspezies aus verschiedenen Gattungen erhalten; Zahl und Dimensionen der Knöllchen, sowie Aussehen der Knöllchenorganismen waren je nach Herkunft des Aussaatmaterials verschieden. Bezüglich der Resultate der Reinkulturen ist Verf. mit den bisherigen Autoren in Widerspruch, da er darin keine beweglichen Formen fand. Er erhielt in Erbsen- oder Lupinendekokt nach Impfung mit Knöllcheninhalt einen schleimigen Niederschlag und fand darin die Bakteroidenformen; Impfung mit solcher Kulturflüssigkeit hat Knöllchenbildung zur Folge. Der Knöllchenorganismus wächst auch nach 4-5 Tagen bei 24^0 als schleimige Haut am Grunde von Flüssigkeiten, welche $1^0/_{00}$ phosphorsaures Kali, $^1/_{10}{}^0/_{00}$ schwefelsaure Magnesia und $5\text{-}10^0/_{00}$ Rohrzucker, Maltose, Laktose, Dextrin, Mannit oder Glycerin enthalten. Dies scheint dem Verf. für die Assimilation von freiem Stickstoff durch diese Bakterien zu sprechen. Letztere sah er aus den bekannten Fäden in den Knöllchen hervorsprossen, sich abgliedern und im umgebenden Zellplasma weiterleben. Da die Bakteroiden sich dichotom verzweigen, so stellt Verf. diesen Organismus mit Pasteuria ramosa Metschnikoff in eine Gruppe, die er Pasteuriaceen nennt.

Koch (181) zeigt nach einer Zusammenstellung der sehr verschiedenen Auffassungen, welche den Fäden in den Leguminosenwurzelknöllchen zu Theil geworden sind, dass dieselben trotz der Angaben der meisten Autoren thatsächlich mit einer Cellulosemembran ausgestattet sind, die nach Behandlung der Schnitte mit Eau de Javelle durch Chlorzinkjod nachgewiesen werden kann und dass daher mit Unrecht die hiermit übereinstimmenden Angaben von Vuillemin und Pichi von anderen Autoren bestritten werden. Verf. weist aber zugleich ohne über die Natur der Fäden ein definitives Urtheil abgeben zu wollen, doch darauf hin, dass hierdurch nicht bewiesen ist, dass diese Fäden etwa von der Leguminose und nicht von den Knöllchenbakterien gebildet sein müssen, da es mehrere freilebende Bakterienformen mit Cellulosemembranen giebt, nämlich Sarcina ventriculi und das die schleimige Essigmutter bildende Bacterium Ulvina n. sp., welches mit dem B. xylinum jedenfalls identisch ist, von dem Brown[1] ebenfalls Cellulosemembran angiebt.

---

[1]) Journal of the chem. Soc. vol. XLIX, 1886; vol. LI, 1887.

Mit Hülfe eines von den bisherigen abweichenden, direkten und sehr eleganten Verfahrens wollen **Schloesing** und **Laurent** (199) beweisen, dass die Leguminosen freien, atmosphärischen Stickstoff assimiliren, indem sie den freien Stickstoff in der in den abgeschlossenen Kulturraum eingeführten und in der aus demselben herausgeleiteten Luft bestimmen. Sie füllen in ein cylindrisches Glasgefäss, welches durch seitliche Tubulaturen mit der zur Stickstoffbestimmung dienenden Glasröhre mit Kupferspirale und der Pumpe in Verbindung steht, sterilisirten Sand, säen Erbsen ein und inficiren mit Knöllchensaft. Sie pumpen den Apparat zuerst leer, füllen mit 20-25% Sauerstoff, 6-9% Kohlensäure und 65-70% volumetrisch genau gemessenem Stickstoff, nehmen dann zeitweise Proben mit Hülfe der Pumpe heraus und fügen Kohlensäure nach Bedarf zu. In zwei Versuchen, die drei Monate liefen, wurden die Erbsen ziemlich kräftig und blühten, trugen aber keine Frucht.

An gasförmigem, freiem Stickstoff wurden	Versuch I	Versuch II
eingeleitet	2681,2 ccm	2483,3 ccm
herausgeleitet	2652,1 ccm	2457,4 ccm
folglich assimilirt	29,1 ccm = 36,5 mg	25,9 ccm = 32,5 mg

In denselben Versuchen bestimmten die Verf. nun ausserdem auf dem gewöhnlichen Wege indirekt den Stickstoff in Samen und Ernte und verfuhren ebenso mit einem Versuch mit nicht inficirten Pflanzen.

	Versuch I siehe oben	Versuch II siehe oben	Versuch III nicht inficirt
Stickstoff in Boden und Saatgut	32,6 mg	32,5 mg	32,5 mg
„ „ „ „ Ernte	73,2 „	66,6 „	33,1 „
folglich assimilirter Stickstoff	40,6 „	34,1 „	0,6 „

Wenn man berücksichtigt, dass die Fehler bei den oben erwähnten, direkten Versuchen 3 ccm betragen können, so stimmen diese direkt und indirekt erhaltenen Resultate recht gut überein und es wird hierdurch, wie die Verf. hervorheben, bewiesen, dass die Erbsen freien Stickstoff assimiliren.

Loew (189) zeigt, dass getrockneter Platinmohr, welcher an Wasser weder Salpetrigsäure noch Ammoniak abgiebt, sofort diese beiden Körper liefert, wenn er mit Natronlauge behandelt wird. Ist letztere sehr verdünnt (1‰), so erhält man nur Salpetrigsäure,

aber kein Ammoniak. Hierbei wird wohl erstens der in geringer Menge mit dem Sauerstoff am Platin verdichtete Stickstoff direkt zu Stickoxyd oxydirt, welches sich schnell weiter in Salpetrigsäure verwandelt. Zweitens wirkt bei Anwendung concentrirter Natronlauge der Stickstoff auf das Wasser und bildet salpetrigsaures Ammoniak.

Derartige Versuche haben, wie Verf. auch selbst hervorhebt, Interesse im Hinblick auf die Physiologie der Bakterien der Leguminosenknöllchen.

Hellriegel (180) weist hier eine Reihe von Einwänden zurück, die ihm besonders von Frank gegen seine bekannten Anschauungen über Stickstoffernährung gemacht worden sind. Frank sagt zuerst, Hellriegel habe von den Nichtleguminosen nicht bewiesen, dass freier Stickstoff für dieselben unbrauchbar sei, denn seine Versuchspflanzen seien krank gewesen. Verf. erwidert darauf, dass er den Gramineen in verschiedener Menge Nitrate geboten habe, welche Frank als nothwendig zur kräftigen Ernährung erklärt und dass er doch nie einen über die gebotene Stickstoffmenge hinausgehenden Stickstoffgewinn konstatiren konnte. Auch die Erbsen und Lupinen des Verf. waren in sterilisirtem, stickstofflosen Boden nicht krank, sondern blieben nur in der Entwicklung stehen, weil ihnen Stickstoff fehlte, denn sie wuchsen kräftig weiter, als ihnen anorganische Stickstoffverbindungen gegeben wurden, obwohl Frank behauptet, Erbsen würden dadurch nur unbedeutend, Lupinen gar nicht gekräftigt. Aber auch bei diesen so gekräftigten Erbsen und Lupinen im sterilisirten Boden fand Hellriegel keine Assimilation freien Stickstoffs. Der Verf. berichtet dann auch noch über einige noch nicht abgeschlossene Versuche, welche gegen die Frank'schen Behauptungen sprechen, dass die Zuführung des Knöllchenmikrobs der Phaseolus vulgaris keine Dienste leiste und dass Erbsen und Lupinen sich in humuslosem, stickstofffreien Sande einerseits und in humushaltigem Ackerboden andererseits verschieden verhalten und die Knöllchenbakterien bei Anwesenheit von genügendem Humus völlig entbehrlich seien. Verf. findet dagegen, dass Phaseolus vulgaris in stickstofflosem sterilisirten Sande bei Zusatz anorganischer Stickstoffverbindungen üppig wachsen, aber vor der Blüthe stehen bleiben, während sie in demselben stickstofflosen Sande unter Zusatz von etwas Bodenaufguss gut Frucht ansetzen. Die Erbsen und Lupinen wuchsen in sterilisirtem, humushaltigem Boden mehr oder weniger; sie wuchsen aber besser in dem nicht sterilisirten und in dem sterilisirten, wenn anorganische Stickstoffverbindungen oder etwas Aufguss aus demselben Boden zugegeben wurde.

Wilfarth (202) wendet sich gegen die Behauptung von Frank (s. p. 124), dass alle Pflanzen freien Stickstoff aufnehmen könnten.

Er citirt z. B. einen Versuch von Frank mit Hafer, wonach im Boden vor dem Versuch 10,4 g N, nach dem Versuch in Boden und Ernte 12,0 g N waren; die Pflanzen enthielten aber nur 0,48 g N, so dass der Boden durch Algen u. s. w. noch 1,12 g N aufgenommen haben musste. Verf. hält zur Erklärung dieses Resultates die Annahme, dass der Boden die Stickstoffzunahme allein bewirkt habe und die Pflanzen ihren Stickstoff aus dem Boden entnommen hätten für mindestens ebenso berechtigt wie die von Frank. Verf. findet ausserdem die von Frank angeführten analytischen Daten ungenügend, da die angeführten Stickstoffzunahmen bei der grossen Menge des angewendeten Bodens (8800 g) innerhalb der analytischen Fehlergrenzen liegen. Auch bei anderen Versuchen ziehe Frank unlogische Schlüsse aus unzuverlässigen analytischen Daten. Andererseits sei Frank auch im Irrthum, wenn er meine die nicht geimpften Leguminosen ständen hinter den geimpften auch in Chlorophyllbildung und Ueppigkeit zurück; Frank beherrsche vielmehr die Methode der Sandkultur nicht. Hellriegel und der Verf. hätten auch erst nach vielen Misserfolgen im Ammoniumnitrat das Mittel gefunden um Erbsen, Lupinen und andere Leguminosen frei von Bakterien ebenso üppig und dunkelgrün, wie im geimpften Zustande zu ziehen. Sie nehmen aber auch dann im sterilisirten Zustande nie Luftstickstoff auf. Neue Versuche zeigen Hellriegel und Wilfarth, dass Frank's Behauptung, im Humusboden sei die Symbiose für die Pflanzen nutzlos, irrthümlich sei. Hellriegel und Wilfarth halten daher den Satz aufrecht: Die Leguminosen nehmen den freien Stickstoff nur dann auf, wenn sie mit Bakterien in Symbiose treten, werden sie steril gehalten, so verhalten sie sich ebenso wie die Nichtleguminosen, d. h. sie sind nicht im Stande, den Luftstickstoff zu verarbeiten.

Nobbe (193) berichtet im Anschluss an diese Bemerkungen von Wilfarth über in Tharand 1890 angestellte Versuche mit Erbsen, Lupinen, Bohnen und auch baumförmigen Leguminosen (Robinia, Gleditschia, Cytisus), die mit Erdextrakten oder daraus oder aus Knöllcheninhalt isolirten Bakterien geimpft wurden. Impfung mit Erdextrakt bewirkte in stickstofffreiem Boden lebhafte Vegetation nicht nur der Leguminosenspezies, die auf dem Boden, von dem der Extrakt stammte, gewachsen war, sondern auch der anderen, während Reinkulturmaterial besonders auf die Spezies wirkte, von der es stammte. Robiniabakterien waren in der Form der Bakterien und Colonien verschieden von Erbsen und Lupinenknöllchen. Gleditschia bildet keine Knöllchen und ist entsprechend ganz indifferent gegen jede Impfung. Verf. glaubt, dass die wirksamen Bakterien im Boden fast allgemein verbreitet sind, durch die Entwicklung in Wurzelknöllchen verschiedener Spezies aber Modi-

fikationen (Anpassungen) erfahren, welche ihre Nachkommen für die betreffende Spezies besonders disponiren.

Fleischer (174) berichtet, dass Aufbringen von kleinen Mengen holländischer Warferde (Wiererde) Hochmoorboden viel fruchtbarer für Erbsen und Bohnen mache; Bremerhavener Schlick wirke ebenso, falls er aber durch Erhitzen sterilisirt werde so mache er seine Wirkung erst in späteren Vegetationsmonaten bemerklich.

Wilfarth (203) findet, dass Wiererdeextrakt nur auf Erbsen, nicht auf Lupinen günstig wirke, wahrscheinlich weil Erbsenbakterien reichlicher in der Wiererde seien. Ueberhaupt scheinen ihm Erbsen- und Wickenbakterien verbreiteter zu sein, als die von Lupine und Seradella. Es ist vielleicht nur eine Grundart, aus der die verschiedenen Varietäten der Knöllchenbakterien entstehen.

Lawes und **Gilbert** (185) berichten über Versuche aus den Jahren 1888 und 1889, die sie im Wesentlichen in derselben Weise und mit dem nämlichen Resultat, wie Hellriegel und Wilfarth angestellt haben und zwar in Sand mit und ohne Erdauszug behufs Infektion und in Gartenboden resp. Lupinenboden. Die 1889 verwendeten Versuchspflanzen waren Erbsen, rother Klee, Wicken, blaue und gelbe Lupinen; von diesem Jahre (1889), in dem der Sand auch sterilisirt wurde, werden aber die analytischen Resultate noch nicht mitgetheilt.

Bréal (172) giebt an, dass die Knöllchenbakterien in Wasser nicht durch Frost getödtet werden. Erbsen, die in Wasser mit Chlorkalium und phosphorsaurem Kalk und mit Luzernebakterien inficirt gewachsen waren, besassen in der Ernte 17mal so viel Stickstoff, wie im Samen. In anderen Versuchen speicherten knöllchentragende Erbsen desto mehr Stickstoff, je grösser die Flusssandmenge war, in der sie wuchsen; kleinere Mengen dieses Flusssandes reicherten sich wohl in Folge der reichlichen Durchlüftung nicht mit Stickstoff an. Mit Cytisusbakterien inficirte Bohnen vermehrten den Stickstoff des Saatgutes auf das 16fache, während die 10 Kilo Flusssand, in dem sie wuchsen und der zuerst stickstofffrei war, nachher $0{,}0581^0/_{00}$ N enthielt. Eine im Oktober gepflanzte Luzernepflanze lieferte im folgenden Jahre in drei Schnitten 80mal so viel Stickstoff, wie in der ausgesetzten Pflanze anfänglich enthalten war; sie wuchs in 4 Kilo Flusssand, der seinen Stickstoff während des Versuchs verdoppelte. (Nach Journal of the chem. Soc. 1890.)

Prillieux (197) hält es für nöthig, seine 1879 im Bulletin de la soc. bot. de France pulicirten Beobachtungen über Leguminosenknöllchen hier zu resumiren, da er findet, dass seine damalige Behauptung, die Bakteroiden entständen auf den warzenförmigen Auf-

treibungen der Fäden in den Knöllchen, die er für Plasmodien hielt, durch LAURENT neuerdings Bestätigung gefunden hat (Ref. p. 129).

Petermann (194) zeigt auch, dass Lupinen viel Stickstoff aus der Atmosphäre aufnehmen, hält aber die Betheiligung von Bakterien dabei nicht für erwiesen. (Repert. der Chemikerzeitg. 1890, No. 15.)

Petermann (195) macht Kulturversuche mit Lupinen in verschieden zusammengesetzten Böden ohne Neues zu finden. Im Hinblick auf die Angaben von FRANK, dass auch Cerealien, ohne Knöllchen zu besitzen, atmosphärischen Stickstoff speichern, warnt er vor Uebertreibung der physiologischen Bedeutung der Knöllchen. Dieselben könnten nicht die einzige Ursache dieser Stickstofffixirung sein, wenn auch ihre Gegenwart der Grund dafür sein mag, dass dieser Prozess bei den Leguminosen am deutlichsten ist. (Nach Journal of the chem. Soc. 1890.)

Atwater und **Woods** (169) fanden bei 60 Haferpflanzen, die in 10 Versuchen in Seesand mit Nährlösung kultivirt wurden, einen sehr kleinen Stickstoffgewinn bei Abwesenheit von Stickstoff in der Nährlösung, grosse Stickstoffverluste, wenn Nitrate in der Lösung gegeben wurden; ähnliche Resultate ergab Roggen. Alfalfa zeigte Wurzelknöllchen und Stickstoffgewinn, sowohl wenn stickstoffhaltige Verbindungen in der Nährlösung enthalten waren, als wenn sie fehlten. (Nach Chem. Centralbl. 1891.)

Duchartre (173) weist im Hinblick auf die neueren Arbeiten über Stickstoffassimilation und Wurzelknöllchen der Leguminosen auf eine Mittheilung von TRABUT in „Algérie agricole (1. janvier 1890) hin, worin derselbe angiebt, dass eine Pflanze von Acacia pycnantha besonders oder A. Melanoxylon, zwei auf armen Böden wachsenden Arten, leicht 30 Kilo Wurzelknöllchen liefert, welche an in der Nähe der Bodenoberfläche wachsenden Nebenwurzeln dicht gedrängt sitzen. Diese Knöllchen enthalten 3,5 und wahrscheinlich noch mehr Procent ihrer Trockensubstanz Stickstoff, während Schafmist 2,18% enthält.

---

d) Verschiedene Gährungen.

205. Béchamp, Gährung der Schleimsäure im Vergleich zu der des Milchzuckers unter denselben Verhältnissen (Bull. soc. chim. Paris 1890, 8. Mai). — (S. 144)

206. Berthelot, Remarks on Formenic Fermentation (Bull. soc. chim. Paris. 3 série, t. III, no. 6). — (S. 145)

207. **Brusilowsky, E.,** Die Bedeutung der Mikroorganismen bei der Bildung des Buchtschlammes (Wratsch 1890, Nr. 32).

208. **Cohn, Felix O.,** Ueber die Einwirkung des künstlichen Magensaftes auf Essigsäure- und Milchsäuregährung (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. XIV, 1890, p. 75). — (S. 140)

209. **Debraye** et **Legrain,** Biogenesis of Hydrogen Sulphide (Compt. rend. soc. biol. série IX, t. XI, p. 466).

210. **Delépine, Sheridan,** On a fermentation causing the separation of cystin. [Prelim. communic.] (Journal of Anat. and Physiol. vol. XXIV, 1890, p. 346; Proceed. of the R. Society. London, vol. XLVII, 1890, p. 198). — (S. 144)

211. **Dubois, R.,** Sur les moisissures du cuivre et du bronze (Compt. rend. de l'acad. Paris, t. CXI, 1890, p. 655). — (S. 144)

212. **Giunti, M.,** Sull'azione della luce sulla fermentazione acetica (Staz. sperim. agr. ital. t. XVIII, fasc II). — (S. 139)

213. **Golden, K. E.,** Fermentation of bread (Botan. Gaz. 1890, p. 204).

214. **Hirschfeld, E.,** Einwirkung des künstlichen Magensaftes auf Essigsäure- und Milchsäuregährung (PFLÜGER's Archiv Bd. XLVII, 1890, p. 510). — (S. 139)

215. **Janke,** Beiträge zur Kenntniss der Zersetzungsprodukte eiweiss- und fetthaltiger Substanzen (Tagebl. d. Naturforschervers. Bremen 1890. Abth. Chemie). — (S. 144)

216. **Kerry, R.,** und **S. Fraenkel,** Ueber die Einwirkung der Bacillen des malignen Oedems auf Kohlehydrate [1. Mittheil.] (Monatsh. f. Chemie Bd. XI, 1890, p. 268). — (S. 141)

217. **Kramer, E.,** Bakteriologische Untersuchungen über das Umschlagen des Weines (Landw. Versuchsst. Bd. XXXVII, 1890, p. 325). — (S. 141)

218. **Laer, H. van.,** Note sur les fermentations visqueuses (Station scientifique de Brasserie. Comptes rendus t. I. 1890, Novembre. Bereits in Mém. cour. et autres Mém. publiés par l'Académie royale de Belgique t. XLIII, 1889. Vergl. BAUMGARTEN's Jahresbericht V, 1889, p. 460).

219. **Pabst,** Neues Ferment zur Bereitung billigen moussirenden Getränkes aus Zuckerlösung (Soc. industr. de Mulhouse 1890, 8. Octobre). — (S. 143)

220. **Petri, R. J.,** Untersuchungen über die durch das Wachsthum der Cholerabakterien entstehenden chemischen Umsetzungen (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt Bd. VI, 1890, p. 374). — (S. 141)

221. **Popoff,** Sur un bacille anaërobie de la fermentation panaire (Ann. de l'Inst. PASTEUR 1890, p. 674). — (S. 143)

222. **Ritsert, E.**, Untersuchungen über das Ranzigwerden der Fette [Dissertation]. Bern 1890. — (S. 144)

223. **Senus, A. H. C. van**, Bijdrage tot de kennis der cellulosegisting [Proefschrift] 8°. 188 pp. 2 Tafeln. Leiden 1890, Leonards. — (S. 136)

224. **Tolomei, Giulio**, Einwirkung der Elektrizität auf die Essiggährung (L'Orosi vol. XIII p. 401). — (S. 139)

225. **Uffelmann, J.**, Verdorbenes Brot (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890, No. 16). — (S. 143)

van Senus (223) giebt eine sehr gründliche Uebersicht der verschiedenen Ansichten über Cellulosegährung und stellt zur Prüfung zahlreiche eigene Versuche an, die theilweise zu neuen Resultaten führen. Er spricht zuerst über Cellulose, Pflanzenzellmembranen, Rohfaser und das Verhalten der Pflanzenzellmembranen in ganzen Kartoffeln, Radieschen, Bohnensamen oder in mikroskopischen Schnitten gegen Bakteriengemische in denen B. Amylobacter zusammen mit anderen unbestimmten Bakterien enthalten war. In den letztgenannten Schnitten verfolgte der Verf., wie sich die Zellwände, an die die Bakterien sich anlegten, aufquollen und endlich ganz gelöst wurden. Holzsubstanz greifen diese Bakterien nicht an und dementsprechend bleiben von Ring und Spiralgefässen die Ringe und Spiralen übrig; dagegen soll die Cutikula von Blättern angegriffen werden. In mit Schlamm versetzter Fleischextraktlösung befindliche Wattefasern überzogen sich mit Schleim, in dem $2^1/_2$-3 μ lange Bakterien lagen, und lösten sich darin nach und nach auf. Ebensolchen Schleimüberzug oder Kokken enthaltende Schleimflocken zeigte die auf oder in Schlamm unter Wasser gelegte Watte; unter beiden Verhältnissen fing die Watte nach Wochen an sich aufzulösen. In geröstetem Flachs war in und zwischen den noch erhaltenen Parenchymzellen Bacillus Amylobacter zahlreich nachzuweisen. Im Rinderpansen fand Verf. auch solche Schleimflocken an den Zellwandresten. Im Verdauungstraktus des Kaninchens und zwar im Magen, Dünn-, Blind- und Dickdarm fand er unter anderen auch dem Amylobacter ähnliche, sich mit Jod blaufärbende, 1 μ breite 3-8 μ lange, manchmal auch in Spindelform auftretende Organismen; auch waren 4 zu 12 μ grosse elliptische Formen und grosse 8-12 μ breite, 30-50 μ lange mit einer Vakuole an jedem Ende versehene Organismen, deren Natur dem Verf. unklar blieb, hier zahlreich. Im Blinddarm bildeten die erwähnten amylobacterartigen Organismen mehr als die Hälfte des Inhaltes; sie färben sich mit Jod hier besonders dann stark blau, wenn die Reaktion des Blinddarmes bei schwacher Füllung alkalisch ist.

Bei der Taube fanden sich im Kropf keine mit Jod blau werdende Formen, im Magen und besonders im Dünndarm wird die Nahrung mehr und mehr in einzelne Zellen zerlegt und werden die Wände derselben theilweise angegriffen; im Magen, Dünn- und Dickdarm fanden sich schleimige Kokkenmassen, die an den Cellulosemembranen klebten, aber kein B. Amylobacter. Verf. wendet sich dann zur näheren Beschreibung von B. Amylobacter, den er nach einem später zu besprechenden Verfahren rein kultivirt hat. Derselbe zeigte eine Länge von 2-10, meist 5-7 μ und 0,8-1 μ Breite; längere bis zu 13 μ messende Formen kamen in stark gährenden Flüssigkeiten vor. Sporenbildung tritt nur bei Gegenwart von Luft ein, während andererseits die Keimung dadurch verhindert und die Bewegung aufgehoben wird. Amylobacter wächst in vom Verf. näher beschriebenen Colonien in Gelatine u. s. w. $1^1/_2$-3 cm unter der Oberfläche, in Wasserstoff auch an der Oberfläche. Der Verf. wendet sich dann zu der Gährthätigkeit und Fermentproduktion des B. Amylobacter und führt hier besonders auch Versuche an, welche die landläufige Behauptung B. Amylobacter sei der Erreger der Cellulosegährung entkräften; er zeigt nämlich in Uebereinstimmung mit Versuchen des Ref., dass B. Amylobacter in Fleischextraktlösung vertheilte Cellulose (Watte, Papier oder Rohfaser) unter keinen Umständen angreift und in sterilisirten Bohnen, Kartoffeln etc. die Wände nicht angreift, wohl aber die Zellen von einander trennt, wonach wahrscheinlich wird, dass er vielleicht durch ein ausgeschiedenes Ferment (Pektase) die Mittellamellen löst. Wohl aber soll nach Verf. B. Amylobacter in Symbiose mit einer anderen sehr kleinen Form aus dem Darm des Kaninchens Cellulose angreifen, während jede der beiden Formen für sich dies nicht thut; der Grund hierfür dürfte nach Verf. darin liegen, dass der eine Bacillus die Cellulosegährung hemmende Produkte des anderen unschädlich macht, neutralisirt etc. und Verf. denkt hierbei auch an Aldehyd, welches nach Tappeiner bei Cellulosegährung entsteht.

Der Verf. wendet sich dann zur Cellulosegährung in Erde, Schlamm, Mist und im Darm der Thiere; er erklärt sich hierbei schliesslich dafür, dass die Cellulosegährung eine anaërobe sei; Holz, welches ja an der Grenze von Luft und Wasser leicht fault, wird auch nicht durch aërobe Bakterien, sondern mehr durch Fadenpilze zersetzt. Adipocellulose (Kork) wird dagegen ausser durch anaërobe vielleicht auch durch aërobe Bakterien zersetzt.

Nach der Zusammenstellung des Verf. haben die verschiedenen Autoren bei den mit unreinem Material angestellten Versuchen als Produkte der Cellulosegährung gefunden Kohlensäure, Methan, Wasserstoff, Buttersäure, eine isomere Buttersäure, Essigsäure, Spuren von

höheren Fettsäuren, von Alkohol und von Aldehyd. Der Verf. glaubt, dass thatsächlich die Cellulose vergohren wird zu Wasserstoff, Kohlensäure und Essigsäure und vielleicht auch der isomeren Buttersäure, die jedoch auch aus Eiweisszersetzung stammen kann. Weiter soll dann der Wasserstoff die Essigsäure successive zu Aldehyd, Alkohol, Aethan und Methan reduciren und zwar soll hierzu in an anderen Körpern armen Medien die Essigsäure und der Wasserstoff ganz verbraucht werden, weshalb HOPPE-SEYLER die Cellulose zu gleichen Theilen Kohlensäure und Methan vergohren fand, während im Darminhalt und an anderen Orten, wo noch leichter reducirbare Körper vorhanden sind, Essigsäure übrig bleibt. Der Verf. bemerkt hierzu, dass selbst freier Wasserstoff durch Einwirkung von Mikroorganismen aktivirt werde.

Der Verf. versuchte weiter aus Flüssigkeiten, in denen Cellulose gohr, ein von Bakterien producirtes bisher nicht aufgefundenes cellulose-lösendes Ferment zu isoliren und konnte wirklich aus Wasser, in dem zwei faulende Rüben zerrieben waren, einen Stoff mit Alkohol fällen, der in alkalischer Lösung bei 37° nach mehrtägiger Einwirkung unter Chloroformzusatz die Cellulose in Bohnenschnitten theils auflöste, theils deutlich anfrass. In Cellulosegährkulturen, die mit Panseninhalt oder Schlamm inficirt waren, fand Verf. weder Zucker noch Dextrin und glaubt daher, dass die Bakterien nur eine kleine Menge celluloselösendes Ferment abscheiden und die gebildeten löslichen Kohlehydrate sofort weiter vergähren. Im Inhalte und in der Wand von Pansen, Pankreas, Dünn- und Dickdarm vom Rind konnte Verf. kein Celluloseferment nachweisen. Die Bedeutung der Cellulosegährung für die Pflanzenfresser will Verf. hauptsächlich auch darin sehen, dass durch die im Verlaufe derselben abgeschiedenen Gase schädliche aërobe Bakterien von dem Darmkanal ferngehalten werden.

Zum Schlusse giebt Verf. die Beschreibung einer Reihe von theilweise neuen Bakterien, die er aus in Cellulosegährung befindlichen Massen, nämlich aus Schlamm, Panseninhalt und faulenden Blättern isolirte; die Formen heissen Clostridium butyricum, Bacillus tenuis, fibrosus, actinobolus, liquefaciens magnus?, perforator, multiformis, ruminicola, flavus, augescens, erraticus, iriodes, Fluobacillus[1] flavus, albus. Im Allgemeinen fand er an den Orten der Cellulosegährung fast immer Clostridium butyricum, daneben anaërobe und wenig aërobe Bakterien. Zur Isolirung anaërober Bakterien benutzt er folgendes einfache Verfahren: In ein U-Rohr von $^1/_2$ cm Weite, dessen beide Enden nach aussen in der Ebene des U rechtwinklich umgebogen sind, saugt er

---

[1]) Dies soll bedeuten fluorescirender Bacillus.

Gelatine mit den darin vertheilten Bakterien, indem er das eine ausgezogene Ende des U-Rohres in die Gelatine steckt. Dann wird das ausgezogene Ende zugeschmolzen, das andere bleibt mit Watte verschlossen. Um von einer weiterhin in dem Rohr gewachsenen Colonie etwas zu entnehmen, wird das Rohr an der betreffenden Stelle zerschnitten. Zwei vom Verf. angegebene Apparate, welche ein Aufsammeln der von anaëroben Gährungserregern producirten Gase erlauben, können nicht wohl ohne Abbildungen beschrieben werden und es sei daher auf deren vom Herausgeber dieses Berichtes in der Zeitschrift für wissensch. Mikroskopie 1891 Heft 2 gegebene und mit Abbildung versehene Beschreibung verwiesen.

Giunti (212) findet, dass direktes Sonnenlicht und selbst diffuses Tageslicht die Entwicklung der Mycoderma aceti und damit die Essiggährung hindert. Lange wirkendes Sonnenlicht tödtet aber die Mycoderma nicht völlig, indessen hält es Verf. doch für möglich in Weinen die Essigsäurebildung auf diese Weise zu verhüten. (Nach J. chem. Soc. 1890.)

Tolomei (224) liess über in Essiggährung befindlicher Flüssigkeit Funken mit Hülfe eines Ruhmkorff'schen Apparates überspringen. Bei stärkeren Entladungen entwickelte sich Mycoderma aceti nicht weiter, bei schwächeren wird dessen Entwicklung weder gehindert noch begünstigt. Nach Aufhören der elektrischen Wirkung geht die Essiggährung in vermindertem Grade weiter. (Nach Chem. Centralbl. 1891.)

Folgende für Essig- und Milchsäuregährung überhaupt interessanten Daten seien nach **Hirschfeld** (214) hier erwähnt, trotzdem diese Arbeit im Hinblick auf die Magengährungen unternommen wurde. Reine Salzlösungen wurden einerseits mit Bacillus acidi lactici (Hueppe) oder aus spontan sauer gewordener Milch, andererseits aus einer (reinen?) spontan auf Lagerbier sich bildenden Decke von Bacillus aceticus inficirt. Die verwendete Pepsinlösung wurde durch Uebergiessen von Magenschleimhaut mit 0,1-0,2°/$_0$ Salzsäure hergestellt.

Milchsäuregährung wird durch 0,01-0,02°/$_0$ Salzsäure Anfangs stark, später weniger gehemmt, durch höhere Gaben stärker verlangsamt, durch 0,07-0,08°/$_0$ ganz sistirt. Pepsin allein wirkt nicht auf die Milchsäuregährung, Salzsäure mit Pepsin wirkt schwächer als ohne Pepsin und sistirt die Gährung erst bei 0,11-0,12°/$_0$. 0,2-0,25°/$_0$ Phosphorsäure hemmen die Gährung. Zu beachten ist, dass in den Versuchen, in welchen überhaupt Gährung eintritt, die Wirkung der sich anhäufenden Milchsäure sich zu der der Salzsäure addirt.

Essiggährung wird durch Zusatz von 0,01-0,02°/$_0$ Salzsäure energisch, durch stärkere Gaben weniger beschleunigt; es ist aber sehr

zweifelhaft, ob Verf. mit Recht diese Wirkung der Salzsäure mit der günstigen Beeinflussung der Essiggährung durch Zusatz von Essigsäure parallelisirt, da letztere auch Gährmaterial für die Essigbakterien ist. 0,06-0,07 °/₀ Salzsäure sistiren die Essiggährung, ohne die Bakterien zu tödten, 0,1 °/₀ Phosphorsäure wirkt auch gährungshindernd. Pepsinsalzsäure wirkt hier nicht so deutlich schwächer, wie bei Milchsäuregährung.

In Bezug auf sichere Sterilisirung der Kulturflüssigkeiten und Reinheit des verwendeten Bakterienmaterials sind die Versuche des Verf. nicht überall einwurfsfrei, wie er selbst theilweise zugiebt.

Cohn (208) untersucht in Beziehung auf die Anschauung, dass eine wesentliche Funktion der Salzsäure im Magen die Verhinderung von Gährung und Fäulniss in der Nahrung sei, wieviel Pepsin und Salzsäure zur Verhinderung von Essigsäure- und Milchsäuregährung nöthig sei. In den zu benutzenden Nährlösungen musste Verf. möglichst solche Salze vermeiden, die mit Salzsäure sich umsetzen und wendete daher auf Grund seiner Versuche keine Phosphate und auch kein Pepton an, welches die Salzsäure ebenfalls bindet. Für die Essigsäuregährung kam er so zu folgender Nährlösung: 0,1 °/₀₀ Chlorkalium, Chlorcalcium, Chlormagnesium, Chlornatrium, 0,2 °/₀₀ Chlorammonium, 1 °/₀ Essigsäure, 2,5 °/₀ Alkohol. Die Milchsäurebakterien konnten ohne Phosphate nicht zum Wachsen gebracht werden; Verf. verwendete eine Lösung von 0,1 °/₀ Chlorammonium, 0,02 °/₀ Calciumchlorid, 0,08 °/₀ Magnesiumsulfat, Dikaliumphosphat in verschiedenen Mengen, 5 °/₀ Milchzucker.

Es ergab sich, dass Pepsin weder auf Essigsäure-, noch auf Milchsäuregährung hemmend einwirkt, vielmehr ein guter Stickstoffträger für die Gährungen zu sein scheint. Bereits durch Spuren von Salzsäure wird dagegen die Essigsäuregährung verhindert. Die Milchsäuregährung wird durch so viel Salzsäure unmöglich gemacht, als nöthig ist, um die Phosphate der Nährlösung in salzsaure Salze umzusetzen; durch mehr als 0,7 °/₀₀ Salzsäure wird indessen die Milchsäuregährung auch wenn noch KH_2PO_4 vorhanden ist, verhindert, wahrscheinlich durch die freigewordene Phosphorsäure. Pepsin-Salzsäure liefert dieselben Grenzwerthe für die zur Verhinderung der Gährungen nothwendige Säuremenge, wie Salzsäure ohne Pepsinzusatz. Nur ist die Gährung bei Gegenwart von Pepsin, weil dieses ein guter Nährstoff ist, entsprechend intensiver. Die an Pepton gebundene Salzsäure kann Gährung nicht mehr verhindern. Bei Gegenwart von Phosphaten bleibt die Essigsäuregährung erst dann aus, wenn genügend Salzsäure vorhanden ist, um die zur Verhinderung der Gährung nöthige Phosphorsäure frei zu machen. Die Grenze für letztere liegt zwischen 0,5 und 0,7 °/₀₀.

Kerry und **Fraenkel** (216) liessen im Anschluss an die Untersuchung von Kerry über die Eiweisszersetzung durch die Bacillen des malignen Oedems[1] jetzt Traubenzucker durch dieselben Bakterien vergähren. Die unter schwacher Gasentwicklung vergohrene Nährlösung war aus amerikanischem Traubenzucker, Pepton und Fleischextrakt zusammengesetzt und die Luft aus den Gefässen durch Kohlensäure vertrieben. Am Schlusse des Versuches fällen die Verff. den gelösten Kalk mit Oxalsäure und finden dann im Destillat Aethylakohol, den sie durch den Siedepunkt und die Oxydation zu Essigsäure identifiziren. Ausserdem war Buttersäure und Gährungsmilchsäure gebildet; eine kleine Menge beigemengte Fleischmilchsäure stammte aus dem Fleischextrakt und wird demnach diese Säure von den genannten Bakterien nicht angegriffen. Die Verff. heben hervor, dass bisher Aethylalkohol als Produkt einer reinen anaëroben Vergährung von Traubenzucker noch nicht nachgewiesen sei.

Petri (220). In Lösungen von verschiedenen Sorten Pepton, oder in Hühnereiern, Fleischbrei oder Hammelblutserum bildeten Cholerabakterien reichlich atlasglänzende, hauptsächlich in dem Oberflächenhäutchen und der Glaswand sitzende, etwa senfkorngrosse Tyrosinknollen, die aus strahlig gruppirten Krystallnadeln bestanden und die Tyrosinreaktionen gaben. Auf ein durch Alkohol fällbares Gift, welches ebenfalls regelmässig in jenen Kulturen sich fand, Peptonreaktionen giebt und vom Verf. Toxopepton genannt wird, kann hier nicht weiter eingegangen werden. Nach Abfiltriren dieses Körpers gewann Verf. aus dem eingeengten Filtrat reichlich Leucin. Ausserdem bilden die Cholerabakterien eine flüchtige Fettsäure. Dass sie stark peptonisirend wirken, Indol und basische Produkte erzeugen, ist bekannt.

Kramer (217). Als umgeschlagener Wein (vin tourné) wird in der Praxis der durch eine Fäulniss, bei der massenhafte Bakterienentwicklung beobachtet wird, in eine ungeniessbare Flüssigkeit verwandelte Wein bezeichnet. Diese Erscheinung ist besonders in südlichen Weingebieten sehr häufig, so dass z. B. in den südlichen europäischen Weinbaudistrikten in manchen Jahren tausende von Hektolitern dadurch unbrauchbar werden; der höhere Eiweissgehalt der dort wachsenden Weine, die mangelhafte Behandlung und die höhere Temperatur begünstigen offenbar die Erscheinung.

Verf. isolirte aus umgeschlagenen kroatischen Weinen und auch einigen aus Krain und Steiermark mit Hülfe von gewöhnlicher Nährgelatine die durch einige Tropfen Wein schwach sauer gemacht wor-

[1]) Sitzungsb. der Wiener Akademie Bd. XCVIII, Abth. III, 1889; Baumgarten's Jahresbericht V, 1889, p. 481.

den war, neun, sämmtlich aërobe Bakterienformen, die alle die Gelatine verflüssigen und die Verf. als Bacillus saprogenes vini Nr. 1-7 und als Micrococcus saprogenes vini Nr. 1 und 2 bezeichnet. Dieselben lassen sich auch gut in mit 0,05% Pepton, 0,5% Glycerin und Wein bis zur schwach sauren Reaktion versetzten Fleischbrühe kultiviren. Verf. empfiehlt aus einem umgeschlagenen Wein, in dem eine Bakterienform vorherrscht, erst eine Reihe Fleischbrühekulturen zu machen, um die beigemengten Organismen möglichst zu entfernen und dann erst Plattenkulturen zu machen.

Der Bacillus saprogenes vini No. I, der 2,5-6 μ lang, 1 μ dick, beweglich ist und Gelatine verflüssigt, ist jedenfalls mit den grossen, von Pasteur aus umgeschlagenem Wein beschriebenen Bakterien identisch. Von den übrigen vom Verf. isolirten Formen sei noch Bacillus No. VII erwähnt, der die beträchtliche Dicke von 1,6-2 μ erreicht, während Bacillus No. IV nur 0,35 μ breit wird; Bacillus III und VI bilden Sporen, deren Entstehung aber vom Verf. in morphologisch unklarer Weise beschrieben wird. Micrococcus No. II ist ausgezeichnet durch einen Durchmesser von 1-1,4 μ.

Die mit dem in umgeschlagenen Weinen vorkommenden Bakteriengemisch angestellten Gährungsversuche des Verf. ergaben, dass diese Bakterien Weinsäure, weinsaures Ammonium und Kali nicht direkt angreifen, wohl aber wenn den Lösungen oder eiweissarmem Wein grössere Mengen Pepton zugesetzt werden.

Die in Rede stehenden Bakterien zersetzen Pepton und Eiweissstoffe unter Bildung von Kohlensäure, Wasserstoff und Ammoniak, welches letztere auch auf den Plattenkulturen merklich wird, im Weine aber von der Weinsäure sogleich gebunden wird.

Bezüglich der Umsetzung des Eiweissmoleküls macht Verf. die Hypothese, dass dasselbe derart gespalten wird, dass Amidoderivate der Fettreihe (Amidosäuren), stickstoffhaltige Körper aus der aromatischen Gruppe, peptonartige Reste u. s. w. entstehen. Die erstgebildeten Zerfallsprodukte werden aber schnell zerlegt, so die Amidosäuren in NH_3 und flüchtige Fettsäuren, die unter Freiwerden von CO_2 und H gespalten werden. Hierfür spricht die Beobachtung, dass zu Beginn der faulen Gährung des Weines in geringer Menge Fettsäuren, CO_2, NH_3 und H, ausserdem Tyrosin und dergl. auftreten.

An die Spaltung der Eiweissstoffe schliessen dann Zersetzungen der Weinsäure und Apfelsäure und Ueberführungen derselben in andere Säuren der Fettkörpergruppe an. Als primäre Zersetzungsprodukte der Weinsäure, des Weinsteins und der Aepfelsäure sind Ameisensäure, Buttersäure, Bernsteinsäure und Milchsäure aufzufassen. Die Essigsäure und die Propionsäure dürften durch die Thätigkeit spezieller

Bakterien aus der Bernsteinsäure und Milchsäure hervorgehen. Die Tartronsäure könnte als Oxydationsprodukt des Glycerins aufgefasst werden.

Leider berichtet der Verf. über gar keine Gährversuche mit seinen rein kultivirten Bakterienformen, so dass weder über die Betheiligung der einzelnen Formen an den angenommenen Umsetzungen noch auch darüber, ob diese Formen überhaupt alle in Beziehung zum Umschlagen des Weines stehen irgend etwas Sicheres ausgesagt werden kann.

Popoff (221) erinnert daran, dass PETERS[1], der den Bakterien eine wichtige Rolle bei der Brotgährung zuerkannte, die Gasbildung im Teig den darin vorkommenden Hefen zuschrieb, da die von ihm aus Teig isolirten Bakterien kein Gas bildeten. Verf. isolirte nun aber mittelst Gelatineplatten in mit Pyrogallussäure von Sauerstoff befreiter Atmosphäre ein in Weizen- und Roggenbrotteig regelmässig vorkommendes fakultativ anaërobiotisches Bakterium, welches Milchsäure und nicht näher untersuchtes Gas producirt (Verf. giebt nicht an, aus welchem Material) und auf dessen Impfung in Teig normale Brotgährung folgt. Dasselbe ist unbeweglich, ähnelt sonst aber sehr dem Bacillus A PETERS, verflüssigt Gelatine nicht, bildet keine Sporen, hat ovale zu zweien oder mehreren zusammenhängende Zellen, wächst auch bei Luftzutritt auf Gelatine in sehr dünnen Häutchen.

Uffelmann (225) fand in der Krume von verdorbenem Roggenbrot ausser Aspergillus flavus, A. glaucus und einem anderen Schimmelpilz bis haselnussgrosse, bräunliche, stark fadenziehende Inseln, die Roggenstärkekörnchen und Bacillus liodermos und ausserdem seltener B. mesentericus vulgaris enthielten. Impfung aus den bräunlichen Flecken oder Reinkulturen der genannten Bakterien ergaben auf Weizen- oder Roggenfeinbrot schwächer gefärbte Flecken, hatten aber auf säuerlichem Roggenschwarzbrote nie Erfolg. Man wird dem Verf. demnach in der Annahme zustimmen, dass die Kartoffelbacillen, indem sie die Backhitze überstanden, die beschriebenen Veränderungen des untersuchten Brotes hervorbrachten und Klebrigkeit und Verfärbung besonders in Folge der neutralen Reaktion des eingesandten Brotes auf diesem stärker sich entwickelten. KRATSCHMER und NIEMITOWICZ[2] fanden in klebrig gewordenem Grahambrot bereits B. mesentericus vulgaris.

Pabst (219) zeigt ein neues, seit einigen Jahren z. B. in Paris zur Herstellung eines billigen moussirenden Getränkes aus Farinzuckerlösung (50 g auf 1 l geben 2% Alkohol) benutztes Ferment, welches

---

[1]) Botanische Zeitung 1889; BAUMGARTEN's Jahresbericht V, 1889, p. 454.
[2]) Vergl. BAUMGARTEN's Jahresbericht V, 1889, p. 461.

unregelmässige, gallertartige, ungefähr erbsengrosse Körner darstellt; dieselben gehen unter dem Namen Tiby oder Graine vivante. (Nach Chemikerzeitg. 1890.)

Ritsert (222) findet, dass das Ranzigwerden des reinen Schweinefettes nicht durch Bakterien und auch nicht durch Fermente verursacht wird, da eingeimpfte Bakterien im Fette absterben und auf 140° erhitztes Fett auch ranzig wird. (Nach Chemikerzeitg. 1890.)

Janke (215) erhielt aus altem Käse, den er bei 40-45° 6 Wochen mit Wasser faulen liess, 4-5% Leucin; auch Milch und Buttermilch sind reich daran. In reifem Käse werden die sonst so beständigen Fette durch Gährung zersetzt, wenn der Käse in Wasser fault; aus Olein, Stearin und Palmitin entstehen unter Wasseraufnahme Glycerin, Stearinsäure, Palmitinsäure und Oelsäure; letztere Säure bleibt weiterhin völlig erhalten, die beiden anderen nur zum kleinsten Theile. (Nach Chemikerzeitg. 1890.)

Dubois (211) sah in mit Ammoniak neutralisirten Kupfervitriollösungen Pilzmycelien sich bilden, die wahrscheinlich zu einer Penicillium glaucum sehr ähnlichen Form gehören. Brachte Verf. nun solche Flüssigkeit auf eine reine Broncefläche, so entstand an den Stellen, wo Mycel lag, eine sehr schöne, der der antiken Münzen gleichende Patina von basisch kohlensaurem Kupfer und dieselbe Verbindung entstand in der mycelführenden Flüssigkeit, wenn Körper, wie Marmor, zugegen waren, die das Sauerwerden der Flüssigkeit hinderten.

Bei der Untersuchung von Urin fand **Delépine** (210), dass die Abscheidung des Cystins um mehrere Tage verzögert wird, wenn man die Flüssigkeit filtrirt, und unmöglich gemacht wird, wenn die Flüssigkeit auf 60° erwärmt wird. Am meisten Cystin wird ausgeschieden, wenn man den Urin einige Tage bei Zimmertemperatur oder kürzere Zeit bei 40° stehen lässt. Die Cystinfällung geht viel langsamer vor sich, wenn starke Essigsäure zugesetzt wird, als wenn man den Urin der spontanen sauren Gährung überlässt. Zusatz eines Tropfens Flüssigkeit, in der Cystinabscheidung im Gange ist, zu filtrirtem Urin derselben Probe bewirkt in 24 Stunden Cystinabscheidung. Hieraus folgert Verf., dass das Cystin aus einer Verbindung im Urin durch eine Gährung abgespalten wird, welche ein ziemlich grosser Organismus, vielleicht eine Torula verursacht. Torula fand Verf. auch in den untersuchten Urinproben. Da Cystin in Leber und Niere gefunden ist, beginnt diese Gährung schon im Organismus.

Béchamp (205) liess 120 g Schleimsäure mit 150 g Kreide, 30 g frischem Syntonin und 1000 ccm Wasser 9 Monate gähren; es entwickelte sich Kohlensäure, Alkohol, viel Essigsäure (56 g kryst.

Natriumacetat) und kaum 2-3 g Buttersäure. Milchzucker entwickelte unter denselben Bedingungen in 3 Monaten Kohlensäure, Wasserstoff, 2,5 ccm Alkohol, 22 g Buttersäure, 20,5 g Essigsäure und etwas Milchsäure. An Gährungserregern fand Verf. seine räthselhaften „Mikrozymen der Kreide“. (Nach Chemikerzeitg. 1890, No. 47.)

Berthelot (206) studirte die Ameisensäuregährung im Dünger und fand die ausgegebene Wärme grösser als bei der Alkoholgährung. (Nach Chem. News 1890.)

VI. Fermente.

a) Allgemeines.

226. Armstrong, E., The Terminology of Hydrolysis, especially as affected by Ferments (Journal of the Chem. Soc. vol. LVII, 1890, p. 528). — (S. 146)

227. Jager, L. de, Erklärungsversuch über die Wirkung der ungeformten Fermente (Virchow's Archiv Bd. CXXI, 1890, p. 182;) Theorie voor de werking der ongevormde fermenten (Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1890, no. 6 p. 150). — (S. 146)

228. Lea, Sheridan A., A Comparative Study of Natural and Artificial Digestions [Preliminary Account] (Proc. of the R. Society London vol. XLVII, 1890, p. 192). — (S. 148)

Armstrong (226) schlägt vor, statt der allzu ähnlichen Ausdrücke fermentations und ferments im Englischen die Worte zymosis (zymic action, zymic product) für die in der lebenden Zelle vor sich gehenden Gährungen und hydrolysis für die durch unorganisirte Fermente oder Enzyme und auch durch Säuren verursachten Anlagerungen von Wasserstoff und Sauerstoff in dem im Wasser vorhandenen Mengenverhältniss. Das Ferment oder die Säure bezeichnet er dann als hydrolyst, die Substanz auf welche diese wirken als hydrolyte. Während aber bei der hydrolysis auch noch Spaltungen vor sich gehen, werden bei der hydration nur die Elemente des Wassers angelagert. Die Ausdrücke, wie z. B. amylolytic ferment für ein solches, welches Stärke spaltet, sind nach dem Verf. verwirrend, weil electrolysis oder hydrolysis bedeutet Spaltung durch Elektricität oder Wasser; er will daher lieber sagen amylo-hydrolyst, proteid-hydrolyst etc. Nur für die Labfermente will er die Bezeichnung hydrolyst noch nicht anwenden, weil noch gar nicht bekannt ist, ob diese Fermente hydrolysirend wirken, wie die anderen; die Labfermente nennt er vielmehr thrombogenic ferments oder thrombogens.

de Jager (227) findet, dass man nach den heutigen Kenntnissen keinen Grund zu der Annahme hat, die Enzyme hätten bestimmte

Zusammensetzung und Eigenschaften und meint diese Enzyme seien vielmehr den imponderablen Stoffen an die Seite zu stellen, die man jetzt als Kräfte auffasst, früher aber als Stoffe, wie Lichtstoff, elektrische Flüssigkeit u. s. w. bezeichnete. Ebenso wie ein Magnet durch Erhitzen unmagnetisch wird, so verlieren die Enzyme durch dieselbe Behandlung ihre Wirksamkeit und zwar bei so niedriger Temperatur, dass eine chemische Veränderung nicht mehr behauptet werden kann. Wie beim Magnet wird auch der Schwingungszustand der Enzymmoleküle leichter geändert, je beweglicher sie sind, denn Pepsinlösung wird bei 70° unwirksam, trockenes Pepsin dagegen bei 160° noch nicht. Des Verf. Ansicht stützt ein Versuch von A. Fick[1], der auf einige Tropfen Lablösung im Reagensglas Milch schichtete und diese in einer Minute gerinnen sah. Verf. hält es für unannehmbar, dass in dieser kurzen Zeit Fermenttheilchen bis oben hin diffundirt seien und glaubt, dass der Gerinnungsprozess von Molekül zu Molekül des Caseïns fortschreitet. Fick hat hierauf selbst eine der des Verf. ähnliche Theorie für das Labferment aufgestellt. Verf. machte nun selbst ähnliche Versuche mit Pankreas, bei denen er die Diffusion „gänzlich" ausschloss. Erbsengrosse Schweinepankreasstücke wurden 4 Tage bis 8 Wochen in viel Glycerin gehalten, dann mit Wasser abgespült und in 1% Stärkelösung gebracht. Wenn das Stückchen 2 Sekunden darin verweilt hatte, war nach 10 Minuten Zucker nachzuweisen und manchmal war nach 24 Stunden alle Stärke verschwunden. Das gleiche Resultat ergab sich, wenn das Stückchen in Wasser gehängt und nach dem Herausnehmen desselben erst nach mehreren Minuten Stärkelösung zugefügt wurde. Dann brachte Verf. dasselbe Stückchen nacheinander je 2 Sekunden in 12 verschiedene Kölbchen und bemerkte, dass in allen nach 10-15 Minuten Zucker auftrat, während er sich in den letzten später hätte bilden müssen, wenn die Erscheinung durch an der Oberfläche des Stückchens hängendes Ferment verursacht wäre. Weiter stellte Verf. Versuche mit Flüssigkeiten, welche Enzyme nicht lösen an und hängte das Pankreasstückchen in eine über der Stärkelösung befindliche Aetherschicht. Verzuckerung trat ein, während der abgeheberte Aether nicht diastatisch wirkte; andererseits bewirkte aber Aether, in den Pankreas bei Abwesenheit von Stärke gehängt war, Zuckerbildung in Stärkelösung. Es scheint demnach, dass der Aether diastatische Wirksamkeit annimmt, dieselbe aber gleich an Stärke abgiebt, wenn solche vorhanden ist. Auch Luft kann sogar die Diastasewirkung übertragen, denn über Stärkelösung gehängte Pankreasstückchen bewirken Verzuckerung. Verf.

[1]) Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. XLV p. 293.

bemerkt aber zu den Versuchen mit Aether und Luft, dass es immerhin möglich, wenn auch nicht wahrscheinlich sei, dass Tröpfchen von dem Pankreas herabgefallen seien.

Wenn sich die angeführte Theorie bewährt, so kann man, wie Verf. hinzufügt, aus indifferenten Stoffen Enzyme herstellen, wie er selbst mit dem Wasser gethan hat.

Sheridan Lea (228) giebt einen Apparat an, in dem die Fermente schneller und vollständiger wirken und der deshalb hier zu erwähnen ist, trotzdem er sich zunächst an die Verdauungsvorgänge im Thier anlehnt. Letztere unterscheiden sich von den bisherigen künstlichen Verdauungsversuchen dadurch, dass im Thier eine beständige Bewegung und Mischung der in Verdauung befindlichen Masse, eine beständige Fortschaffung der Verdauungsprodukte und beständiger Zufluss neuer Verdauungsflüssigkeit statt hat. Alles dies soll in dem Apparat des Verf. auch stattfinden. Derselbe besteht aus zwei in einander gesteckten Cylindern; der Inhalt des innern wird durch zwischen beide Cylinder geleitetes Wasser auf 40° C geheizt. Die zu verdauende Substanz wird mit dem Ferment in ein U-Rohr aus Pergamentpapier gethan und in dem ebenfalls mit der zu verdauenden Flüssigkeit aber ohne Ferment gefüllten inneren Cylinder durch eine Vorrichtung immer auf und ab bewegt. Durch die dabei über die Ränder des U-Rohres fliessenden Flüssigkeitswellen wird sein Inhalt gemischt und die Verdauungsprodukte diffundiren nach aussen; auf diese Diffusion kann man ausserdem einwirken durch Wechsel des Cylinderinhaltes mittelst eines unten vom Cylinder abgehenden Rohres; beständiger Zufluss von Ferment liess sich dagegen nicht bewerkstelligen. Die Fermentwirkungen gehen in diesem Apparat viel energischer wie bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung vor sich, wenn auch aus mehreren Gründen nicht ebenso kräftig wie im Thier.

Als Verf. in seinem Apparat Stärke mit Speichel behandelte, erhielt er z. B. aus 3,412 g Stärke 2,838 g Maltose und nur 0,505 g Dextrin, während in bisherigen künstlichen Verdauungsversuchen viel mehr Dextrin, im Thier aber nur Zucker entsteht; in dem Apparat ging die Umsetzung, wenn die Stärke nicht in sehr viel Flüssigkeit vertheilt war, schneller als in einer gewöhnlichen Flasche vor sich. Als er Fibrin mit Trypsin (reines Trypsin in 0,25 % Sodalösung mit 0,5 % Thymol oder Benger's liquor pancreaticus in derselben Flüssigkeit) behandelte, wurde in kürzerer Zeit viel mehr Fibrin in dem Apparat umgesetzt, wie in einer gewöhnlichen Flasche, es entstand dabei aber ungefähr die gleiche Menge Leucin und Tyrosin in beiden Fällen.

---

b) Diastase.

229. Boidin, Ueber die Filtration von Würzen aus grünem Malz und Mais durch Chamberland-Filter (Bull. soc. chim. Paris, série III, t. IV, 1890, p. 341). — (S. 163)

230. Fermi, C., Die Leim und Fibrin lösenden und die diastatischen Fermente der Mikroorganismen (Archiv f. Hygiene Bd. X, 1890, p. 1). — (S. 159)

231. Krabbe, G., Untersuchungen über das Diastaseferment unter spezieller Berücksichtigung seiner Wirkung auf Stärkekörner innerhalb der Pflanze (PRINGSHEIM's Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXI, 1890, p. 520). — (S. 149)

232. Lintner, C. J., und F. Eckhardt, Diastase (Journal f. prakt. Chemie N. F. [2] Bd. XLI, 1890, p. 41). — (S. 153)

233. Lintner, C. J. jun., Ueber die Einwirkung von Diastase auf unverkleisterte Stärke (Wochenschr. f. Brauerei 1890, p. 22). — (S. 154)

234. Petzoldt, H., Studien über Diastase (Wochenschr. f. Brauerei 1890, p. 265). — (S. 163)

235. Société générale de Maltose in Brüssel: Verfahren zur Darstellung haltbarer Malzwürze und fester Diastase sowie zur Verzuckerung mittels derselben. D. R.-Patent 18. Dez. 1888 (Wochenschr. f. Brauerei 1890, p. 104). — (S. 164)

236. Wijsman, M. H. P. jr., La diastase considérée comme un mélange de maltase et de dextrinase [Thèse pour obtenir le grade de docteur ès sciences: De diastase beschouwd als mengsel van maltase en dextrinase, Amsterdam 1889, extrait de l'auteur]. (Recueil des travaux chim. des Pays-Bas t. IX, 1890, no. 1). — (S. 155)

237. Wilson, J. A., Ueber Darstellung von Diastase (Chem. News 1890, p. 227). — (S. 163)

238. Wortmann, J., Ueber den Nachweis, das Vorkommen und die Bedeutung des diastatischen Enzyms in den Pflanzen (Bot. Zeitg. 1890, p. 581). — (S. 157)

Krabbe (231) will zeigen, dass man bisher mit Unrecht angenommen hat, dass Diastase in Wasser eine molekulare Lösung bilde und in Stärkekörner eindringend, nach Art von Säuren und Alkalien, hier auslaugend wirke. Er studirt zu dem Zwecke zunächst die Einwirkung der Diastase auf Gramineenstärke im keimenden Samen und

findet speziell bei den scheibenförmigen Stärkekörnern von Triticum vulgare, dass successive und in regelloser Anordnung sich Porenkanäle unter dem Einfluss der Diastase bilden, die immer tiefer in das Stärkekorn eindringen und sich vielfach verzweigen bis schliesslich das Stärkekorn in kleine Stücke zerbricht und dass auch die vermeintlich durch Auslaugung entstandenen, durch andere Lichtbrechung ausgezeichneten keilförmigen Partien am Rande Porenkanäle sind, die von der Kante her eindringen und manchmal zu breiten Spalten verschmelzen. Die eigenthümliche Schichtung, welche die Stärkekörner so weit die Porenkanäle reichen zeigen, rührt daher, dass bei Bildung der Kanäle die dichteren Schichten weniger stark angefressen werden und daher in das Innere des Kanals ringförmig hervorragen. Da die Porenkanäle während ihrer Entstehung immer scharf umschrieben bleiben und ausserhalb derselben durch Quellungsmittel und Jodlösung keine Veränderung wahrzunehmen ist, so ist eine Auslaugung, ein Eindringen der Diastase in die intermicellaren Räume der Stärke nicht anzunehmen und die Lösung der Stärke vielmehr mit der eines Krystalls zu vergleichen, wobei die Umwandlung der Stärkemoleküle in Zucker nebensächlich ist. Ausser Triticum vulgare untersucht Verf. noch Hordeum vulgare, Secale cereale, Zea Mays und andere mit dem gleichen Resultat, welches demnach für alle Gramineen gelten dürfte. Zea ist ein sehr günstiges Objekt. Im Anschluss hieran untersuchte Verf. noch die Stärke in den Reservestoffbehältern einer Reihe anderer Pflanzen, fand aber nie Erscheinungen, die auf ein Eindringen der Diastase in die Stärkesubstanz schliessen lassen. Zunächst führt er noch eine Reihe von Fällen an, wo unter dem Einfluss der Diastase Porenkanäle in den Stärkekörnern entstehen und bespricht besonders eingehend die Auflösung der Stärke in Leguminosensamen an dem Beispiel von Phaseolus multiflorus, weil nach Baranetzky und Wigand an der Leguminosenstärke die Auslaugung durch Diastase besonders deutlich sei, indem hier die Körner von innen heraus durch Bildung innerer Hohlräume gelöst würden. Verf. zeigt aber, dass diese Hohlräume erst entstehen, nachdem die Diastase durch feine Porenkanäle oft unter Benutzung radialer Risse und eines aus den Basaltheilen dieser Risse bestehenden inneren Hohlraumes in das Innere des Kornes eingedrungen ist. Von der bisher besprochenen sehr erheblich verschieden ist die Auflösung der Stärke in den Reservestoffbehältern einer Reihe von anderen Pflanzen (Solanum tuberosum, Lilium candidum, Lathraea clandestina, Orobanche und Phajus grandifolius), welche durch ein gleichmässiges Abschmelzen von aussen nach innen erfolgt. Gerade hier ist besonders deutlich, dass die Diastase nicht in das Innere des Stärkekornes eindringt. Die betreffenden Körner sind meist gross,

excentrisch und deutlich geschichtet. Die wasserreicheren Schichten enden zum Theil an den Seiten des Kornes blind, während an der Oberfläche sich die dichteren Schichten gruppenweise zu einer homogenen Schicht vereinigen. In Folge der auf der ganzen Oberfläche des Kornes gleichen oder in einigen um das ganze Korn herumgehenden Zonen stärkeren Wirkung der Diastase werden nun die seitlichen Verwachsungen der äusseren Schichten gelöst, so dass dichtere und weniger dichte Schichten frei nach aussen enden. Merkwürdigerweise werden aber die wasserreichen Schichten nur Anfangs stärker von der Diastase angegriffen. Während dieser Art der Lösung sind nun keine auf Auslaugung deutende Veränderungen der peripheren Schichten zu konstatiren und trotz der langen Zeit, welche diese Lösung in Anspruch nimmt und welche eine Verbreitung der Diastase im ganzen Korn sichern würde, ist nicht zu beobachten, dass die substanzärmere Mitte früher angegriffen würde als die Peripherie. Auffallenderweise wird indessen ein Theil der Stärkekörner dieser Pflanzen und zwar die kleineren nicht durch Abschmelzen, sondern auf die zuerst beschriebene Weise durch Porenkanäle aufgelöst. Mit dem Abschmelzen gehen aber oft Hand in Hand eigenthümliche gruben- oder kraterartige lokale Corrosionen. In den nicht zu den Reservestoffbehältern gehörenden Pflanzentheilen sah Verf. die Stärkelösung auch nach den hier beschriebenen Weisen verlaufen.

Von Bakteriengemengen und in Diastaselösungen ausserhalb der Pflanze wird die Gramineenstärke ebenso korrodirt, wie im keimenden Samen, nicht so die Kartoffelstärke. Dieselbe zeigt unter der Einwirkung von Bakterien röthliche, kreisförmige Partieen, die sich als bohrlochartige Vertiefungen entpuppen, die sich im Innern des Korns verbreiternd verschmelzen und so grössere unregelmässige Vertiefungen bilden; völlige Lösung der Körner durch Bakterien konnte Verf. nicht beobachten. In Diastaselösungen zeigen Kartoffelstärkekörner selten oberflächlich verlaufende Furchen, die bei reicher Verzweigung ein dichtes Maschennetz bilden, meist aber treten zuerst oberflächliche unregelmässige Corrosionen auf, die sich bald vertiefen und sich zu mehreren inneren Höhlungen erweitern.

Für die beschriebenen lokalen Corrosionen können nach Verf. nur zum sehr geringen Theile Strukturverhältnisse der Stärkekörner verantwortlich gemacht werden, denn dergleichen müsste dann auch am intakten Korn durch Quellungsmittel u. s. w. sichtbar gemacht werden können; auch könnte dann nicht z. B. Kartoffelstärke in der austreibenden Knolle, in Diastaselösung und in Bakterienflüssigkeit verschieden angegriffen werden. Die lokal verschiedenen Corrosionen wären sofort erklärt, wenn nachgewiesen werden könnte, dass die Diastase

aus Bakterien oder bestimmt geformten Plasmatheilchen bestehe. Allein weder die direkte Beobachtung, bei der auch in den Porenkanälen korrodirter Stärkekörner keine Plasmatheilchen nachweisbar sind, noch die Erfahrung des Verf., dass Diastase in Lösung auf —15° abgekühlt schon bei —3° wirkt, lässt die Annahme einer Betheiligung lebenden Plasmas bei der Diastasewirkung möglich erscheinen; auch wird Diastase durch absoluten Alkohol nicht zerstört, der Plasma unbedingt tödtet. Verf. zeigt auch durch einen freilich ziemlich rohen Versuch, dass 1 cm eines „Bakteriengewimmels“ aus in Wasser faulenden Samen erst nach frühestens 24 Stunden eine deutliche Aenderung der Jodreaktion in 10 ccm 0,5 procentigen Weizenstärkekleister hervorbringt, während Malzdiastaselösung dies nach Minuten thut. Im Ganzen hätte Verf. aber doch wohl nicht so breit zu beweisen brauchen, dass Diastase nicht aus Bakterien besteht.

Um nun auf andere Weise das Verständniss dafür anzubahnen, dass Diastase nicht in die Stärkesubstanz eindringen kann, stellt Verf. Diffusionsversuche mit Diastase an und findet, dass Diastase durch Pergamentpapier und Porzellanröhren mit 2 mm starker Wand schwer hindurchgeht und Thonzellwände nur bei Anwendung von Druck d. h. wenn man die Thonzellen nicht mit Stärkekleister, sondern mit Luft umgiebt passirt. Durch frisches Edeltannnenholz konnte Verf. durch Druck von 1 Atmosphäre Spuren von Diastase hindurchdrücken, doch betrachtet er diesen Versuch selbst nicht als beweiskräftig dafür, dass die Diastase durch Zellwände geht, weil nicht sicher ist, ob offene Tracheidenstränge wirklich im Edeltannenholz völlig fehlen. Nach diesen Versuchen ist klar, das Diastase in die intermicellaren Räume eines Stärkekornes nicht eindringen kann, wenn sie selbst die im Vergleich zu jenen riesengrossen Poren einer Thonzelle nicht passiren kann und zwar kann die Ursache dafür nicht in der Grösse der Diastasemoleküle liegen, denn man muss annehmen, dass auch die grössten Moleküle viel kleineren Durchmesser als die Thonzellporen haben, sondern die Diastasemoleküle müssen zu grösseren Micellen oder gar Micellarverbänden zusammentreten und deshalb selbst Thonzellporen nicht passiren können. Ueber die chemische Natur der Diastase bemerkt Verf. im Vorbeigehen, dass nach Hirschfeld (Pflüger's Archiv Bd. XXXIX), Lintner (Journal f. prakt. Chemie Bd. CXLIV, 1887) und Anderen die Diastase jedenfalls kein Eiweisskörper, nach Hirschfeld ein gummiartiger Körper sei. Bezüglich der Wanderung der Diastase durch Zellmembranen kommt Verf. zu dem Schluss, dass Diastase in der Form, in der sie Stärke in Zucker verwandele, nicht wandern könne, sondern vorher eine chemische Umwandlung mit nachheriger Restitution durchmachen müsse, vielleicht auch überhaupt nicht

wandere. Der Verf. betont dann auch, dass ARTHUR MEYER's Erklärung der Schichtung der Stärkekörner durch Fermentwirkung mit dem vom Verf. geführten Nachweis, dass Diastase nicht in die Stärkekörner eindringe, falle; näher kann darauf hier nicht eingegangen werden.

Zum Schluss versucht Verf. Andeutungen zu geben wie nun die lokalen Corrosionen der Stärke erklärt werden können. Er bemerkt, dass auch beim Eintauchen von Krystallen in Säuren oder Wasser solche Aetzfiguren sich bilden (vergl. LEHMANN, Molekularphysik Bd. I), dass nach LEHMANN hierbei Contaktbewegungen, wie sie bei Berührung mischbarer Flüssigkeiten vorkommen, im Spiele sind und solche auch zur Aufklärung der Stärkecorrosionen dienen würden.

Lintner und **Eckhardt** (232) geben hier eine Uebersicht der Resultate ihrer in der Zeitschrift für das gesammte Brauwesen 1889 Bd. XII ausführlich veröffentlichten Arbeit; diese Ergebnisse sind von allgemeinerem Interesse und deshalb hier anzuführen. Zuerst vergleichen sie das Ferment von ungekeimter Gerste oder Weizen mit Malzdiastase indem sie die Abhängigkeit der bei der Einwirkung dieser Fermente auf Stärke entstehenden Zuckermenge von der Einwirkungstemperatur durch Curven darstellen. Hierbei verwendeten die Verff. nicht wie KJELDAHL Kartoffelstärkekleister, sondern lösliche Stärke. Das günstigste Temperaturintervall für Malzdiastase ist 50-55^0, für das Gerstenferment 45-50^0; besonders beachtenswerth ist aber, dass letzteres schon bei 4^0 so stark wirkt, wie Malzdiastase bei 14,5^0. Dagegen erreicht das Reduktionsvermögen für Gerstenferment höchstens 41,2, für Malzdiastase 51,0. Die Curve des ersteren fällt ausserdem weniger steil ab. Bei 50^0 verschwindet daher bei Einwirkung eines Gerstenauszuges auf lösliche Stärke die Jodreaktion deshalb langsamer, als bei Anwendung eines Malzauszuges von gleichem Fermentativvermögen, weil bei 50^0 die Intensität der Zuckerbildung eines Gerstenauszuges geringer ist als die des Malzes, während bei gewöhnlicher Temperatur unter den Bedingungen der Fermentativbestimmung das Umgekehrte der Fall ist. Deutlicher noch ist der Unterschied der genannten beiden Fermente in Bezug auf die Verflüssigung der Stärke. Gersten- oder Weizenauszüge haben nämlich nur ein äusserst geringes Verflüssigungsvermögen. Die Versuche von KJELDAHL und den Verff. zeigen, dass eine Temperatur von 62^0 bei Anwendung von Stärkekleister weniger schädlich auf die Fermentthätigkeit einwirkt, als bei Anwendung von löslicher Stärke. Dies findet vielleicht seine Erklärung in der von LINTNER gemachten Beobachtung, dass Diastase durch hohe Temperatur in wässeriger Lösung weit mehr geschwächt wird, als bei

Gegenwart von Stärke; es wäre denkbar, dass Stärkekleister mehr schützt als lösliche Stärke.

Weiter beschäftigen sich die Verff. mit der sogenannten künstlichen Diastase von Reychler[1], der ein diastatisches Ferment aus Weizenkleber durch Einwirkung verdünnter Säuren entstehen sah und glaubt, dass bei der Keimung die Fermente durch ähnliche Prozesse entstehen. Die Verff. finden bei Nachuntersuchung, dass die Reychler'schen Lösungen ganz den Gersten- und Weizenauszügen in ihren Wirkungen gleich sind und den Malzauszügen nicht verglichen werden dürfen. Es kann nach den Verff. nicht angenommen werden, dass das Reychler'sche Ferment aus dem Kleber oder einem Theil desselben etwa dem Mucedin entstehe, denn dann müssten viel kräftigere Auszüge bei Behandlung mit Säuren entstehen. Man müsse vielmehr annehmen, dass dem Kleber wie dem Mucedin eine unbekannte Substanz anhafte, ein Fermentogen oder Zymogen, welches in Berührung mit verdünnten Säuren oder vielleicht schon mit Wasser Ferment erzeuge. Die Verff. heben im Anschluss daran mit Recht hervor, dass der Prozess der Fermentbildung bei der Keimung jedenfalls viel komplizirter sei, als der der Wirkung verdünnter Säuren.

Da die Stärkesorten der Getreidearten nach **Lintner** (233) erst bei 75-80° vollständig verkleistern, so folgt schon aus dem üblichen Brauereimaischverfahren, dass Diastase auch auf unverkleisterte Stärke einwirkt. Verf. hat dies bei einigen Stärkesorten und verschiedenen Temperaturen genauer verfolgt. Er versetzt 2 g lufttrockne Stärke mit 50 ccm Malzauszug (50 g Darrmalz mit 500 ccm Wasser 6 Stunden bei gewöhnlicher Temp.) und hält das Gemisch 4 Stunden bei der Versuchstemperatur.

Es wurden von 100 Theilen Stärketrockensubstanz umgewandelt

von	bei 50°	55°	60°	65°	70°
Kartoffelstärke	0,13	5,03	52,68	90,34	—
Reisstärke	6,58	9,68	19,68	31,14	—
Gerstenstärke	12,13	53,30	92,81	96,24	—
Grünmalzstärke	29,70	58,56	92,13	96,26	—
Darrmalzstärke	13,07	56,02	91,70	93,62	—
Weizenstärke	—	62,23	91,08	94,58	—
Maisstärke	2,7	—	18,5	54,6	93,3
Roggenstärke	25,2	—	93,7	94,5	—
Haferstärke	9,4	48,5	92,5	93,4	—

Auf Kartoffel-, Reis- und Maisstärke wirkt Diastase daher erst

[1]) Berichte d. chem. Ges. 1889, p. 414.

in der Nähe der Verkleisterungstemperatur erheblich ein. Für die Brauereipraxis empfiehlt Verf. deshalb ein vorheriges Kochen der Mais- und Reisstärke.

Wijsman (236) will zeigen, dass die Diastase aus zwei Fermenten besteht. Es war bekannt, dass aus Stärke bei Temperaturen bis zu 60° viel mehr Maltose als Dextrine entstehen, während bei höherer Temperatur die Dextrine überwiegen und dass bei höherer Temperatur ein durch eine neue Portion Malzauszug in Zucker umzuwandelndes Dextrin entsteht, während dies bei dem bei niederer Temperatur gebildeten Dextrin nicht gelingt. Dies wurde zuerst andeutungsweise von Maercker, dann genauer von Dubrunfaut durch die Theorie zu erklären versucht, dass in der Diastase zwei Fermente enthalten seien, für welche Cuisinier die Namen Maltase und Dextrinase einführte; Dextrinase soll demnach aus Stärke Dextrin bilden, welches von Maltase, die ihrerseits auf Stärke nicht wirken soll, in Zucker übergeführt werden soll. Verf. findet dagegen, dass Stärke durch Maltase in Maltose und Erythrogranulose umgewandelt wird, welche Erythrogranulose durch Dextrinase in Leukodextrin übergeführt wird, während Stärke direkt durch Dextrinase in Maltodextrin umgewandelt wird, aus dem durch Maltase Maltose entsteht. Verf. gelangt hierzu auf folgendem Wege. Er sucht die beiden Fermente durch ihre ungleiche Diffusion in Gelatine zu trennen. Er vertheilte in Gelatine lösliche Stärke (nach Lintner), setzte auf solche Stärkegelatine einen Tropfen möglichst gereinigter Malzdiastaselösung und sah nach 1-2 Tagen bei Behandlung mit Jod das Diffusionsfeld der Diastase in der Mitte farblos bleiben, am Rande aber violett werden; er erklärt dieses Bild dadurch, dass der violette Ring die Zone bezeichnet, in der die schneller diffundirende Maltase der Dextrinase vorausgeeilt sei und die Stärke in Erythrogranulose umgewandelt habe, während in der farblosen Mitte beide Fermente zugleich wirkten. Diese Auffassung wird dadurch gestützt, dass durch die Guajakreaktion Ferment nur da nachgewiesen wird, wo Jod Erythrogranulose anzeigt (?). Dementsprechend erhält man, wenn man ein Stückchen aus der mit Jod violett werdenden Gelatine auf neue Stärkegelatine legt, ein nur violett werdendes Diffusionsfeld ohne farblose Mitte, weil jenes Stückchen nur Maltase enthielt. Wenn die Diastase ein Gemisch ist werden chemische und physikalische Mittel auf die beiden Componenten verschieden wirken. In der That erhält man nach fraktionirter Fällung den violetten Ring desto breiter je stärker der Alkohol war; Maltase ist also löslicher in Alkohol als Dextrinase; andererseits wird der violette Ring desto schmäler, je höher man das Ferment erhitzte und bei gesteigerter Wärmewirkung kann man die Concentration der

Maltase gegenüber der der Dextrinase so weit herabsetzen, dass die Dextrinase der Maltase in der Diffusion vorauseilt und so die Stärke direkt ohne vorherige Einwirkung der Maltase angreift. Die Abschwächung der Maltase beginnt bei 55°, während Dextrinase zehn Minuten auf 75° erwärmt werden kann. Kleine Mengen Säure greifen Dextrinase viel mehr als Maltase an. Der Verf. verwendete für seine Zwecke auch das bekannte Verfahren von Beijerinck, welches darauf beruht, dass Leuchtbakterien in Gelatine aufhören zu leuchten, wenn sie alle geeignete oxydirbare Substanz verbraucht haben und wieder aufleuchten, wenn man solche Substanz wieder zuführt. Der Verf. kultivirte nun Leuchtbakterien auf Stärkegelatine und setzt darauf Tropfen von Diastaselösung; es leuchtet dann ein Ring an der Peripherie des Diffusionsfeldes, da wo die Maltase allein wirkt auf und Verf. folgert daraus, dass Maltase die Stärke in Erythrogranulose und Maltose umwandelt, weil Maltose erfahrungsgemäss Aufleuchten verursacht. Andererseits bildet Dextrinase aus Erythrogranulose neben Leukodextrin keine Maltose, denn das Centrum des Diffusionsfeldes der Diastase leuchtet nicht auf. Verwendet man dagegen 10 Minuten lang auf 70° erhitzte Diastaselösung, so ist die Maltase grösstentheils zerstört und bei der Diffusion eilt die Dextrinase voraus, während im Centrum des Diffusionsfeldes der Rest der Maltase bleibt; das Diffusionsfeld leuchtet hierbei in der Mitte auf aber nicht am Rande. Hieraus folgt, dass Dextrinase aus Stärke neben einem mit dem Maltodextrin von Brown und Morris und Herzfeld, welche bei höheren Temperaturen arbeiteten, identischen Dextrin keine Maltose bildet, während der Maltaserest im Centrum des Diffusionsfeldes aus dem Maltodextrin Maltose bildet.

Da erfahrungsgemäss Stärke durch Diastase fast ganz in Maltose verwandelt wird, muss angenommen werden, dass Stärke vollständig und nur in Maltodextrin und dieses durch Maltase völlig in Maltose verwandelt wird, während wenn Maltase vor der Dextrinase wirkt ein Theil des Leukodextrins der Verzuckerung entgeht.

Auf Grund dieser Anschauungen und durch direkten Versuch klärt Verf. den Streit, ob ein mit Jod sich nicht färbendes Dextrin in Zucker übergeführt werden könne oder nicht, dahin auf, dass die Autoren je nach der Versuchstemperatur Malto- oder Leukodextrin erhalten haben.

Die Maltase findet sich schon im ungekeimten Korn der Gerste und zwar im Endosperm, während die Dextrinase in den äusseren Schichten des überreifen und gekeimten Kornes und einem Theil des Keimes enthalten ist. Aus Gerste, die ihrer äusseren Schichten beraubt ist (Perlgerste), kann man daher reine Maltase gewinnen, die

auf Stärkegelatine ein mit Jod ganz violett werdendes Diffusionsfeld giebt. Stärkelösung mit solcher Maltase versetzt wird in eine Lösung von Erythrogranulose und Maltose verwandelt; erstere kann daraus durch Fällen mit Alkohol, letztere durch Krystallisation erhalten werden. Die Lösung färbt sich dementsprechend auch nach 14 Tagen noch violett mit Jod. Die durch mehrmaliges Fällen gereinigte Erythrogranulose ist ein in kaltem Wasser leicht lösliches Pulver und scheidet sich aus dieser Lösung beim Gefrieren nicht aus; durch beide Eigenschaften unterscheidet sie sich vom Amylodextrin Nägeli's. Die violette Färbung der Erythrogranulose mit Jod wird röthlich, wenn eines der beiden sich nicht mit Jod färbenden Dextrine beigemengt ist; Verf. hält daher alle beschriebenen Erythrodextrine für Gemenge von Achroodextrinen mit etwas Erythrogranulose.

Wortmann (238). Man ist heute allgemein der Ansicht, dass überall in den Pflanzen die Stärke nur durch Diastase in Lösung gebracht wird. Da aber auch in stärkefreien Pflanzentheilen Diastase gebildet wird, so entsteht die Frage, ob dieser Körper nicht auch in stärkehaltigen Organen manchmal von keiner oder untergeordneter Bedeutung ist und die Stärkeumwandlung nicht allein zu bewältigen vermag. Stärkelösung ist aber auch auf andere Weise, so besonders durch das lebende Plasma selbst denkbar. Auffallend wenig Diastase findet sich vor Allem in Blättern, in denen doch sehr bedeutende Mengen Assimilationsstärke in Lösung gebracht werden. Trotzdem sich diese Arbeit also vorzugsweise mit den Blättern höherer Pflanzen beschäftigt, sei sie wegen ihrer allgemeinen Bedeutung für die Lehre von den Fermenten hier besprochen. Ehe der Verf. nun seine Versuche zur Entscheidung dieser Frage mittheilt, bespricht er zuerst eine Reihe von Punkten der Versuchsanstellung, die zur Erlangung übereinstimmender Resultate bei Diastaseversuchen wohl zu beachten sind. Er behandelte behufs Extraktion der auf Diastase zu prüfenden Pflanzentheile dieselben mit ungefähr der gleichen Menge Wasser, operirte stets mit grösseren Mengen Extrakt (bis 500 ccm) und betont, dass nur solche Versuche beweiskräftig sind, wo in kurzer Zeit unzweifelhafte Stärkelösung durch den Extrakt bewirkt wird, da sonst diastasebildende Bakterien ins Spiel kommen können. Fällung der Diastase mit Alkohol kostet für grössere Versuchsreihen zuviel Zeit und Alkohol. Sichere Diastasewirkung ist nicht durch Auftreten von Zucker oder Klärung der mit Stärkekleister versetzten Flüssigkeit sondern nur durch Constatirung des Verschwindens des Kleisters mittelst Jod zu beweisen aber auch nur, wenn man unter fortwährendem Umschütteln die nöthigen Mengen Jod zusetzt. Zu beachten ist auch, dass in einige Zeit mit Diastase behandelten Kleistergemischen die Jodlösung nicht

ohne Weiteres sondern erst nach dem Aufkochen des Gemisches die Gegenwart von unzersetzter Stärke anzeigt. Dies Verhalten erklärt sich nach Verf. dadurch, dass das zuerst durch die Diastasewirkung entstandene Amylodextrin in der gequollenen Stärke sitzen bleibt und durch seine Jodfärbung die der Stärke verdeckt; durch Kochen wird das Amylodextrin ausgezogen und die Jodfärbung der Stärke tritt nun hervor. Die Jodreaktion auf Stärkekleister kann auch dadurch getrübt werden, dass feine Eiweissniederschläge, die sich in Pflanzenextrakten oft bilden, oder die sich in der Flüssigkeit vermehrenden, mit ihren Schleimmembranen an der Stärke hängenbleibenden Bakterien die Stärkeflocken umhüllen und der Jodlösung den Zutritt verwehren; im letzteren Falle erkennt man die Stärke mikroskopisch, nachdem man sie mit Alkohol kontrahirt hat oder makroskopisch, wenn man die mit Alkohol niedergeschlagenen stärkeführenden Zoogloeen mit Wasser aufkocht und mit Jod färbt. Verf. zog es aus allen diesen Fehlergründen meist vor statt Stärkekleister eine Amylodextrinlösung zu verwenden, deren Umwandlung in Dextrin und Zucker auch durch Jodfärbung natürlich festzustellen war. Er stellte zunächst Versuche mit Samen an und fand in stärkefreien ungekeimten und gekeimten, sowie in stärkehaltigen ungekeimten Samen stets nur Spuren von Diastase, die wohl keine physiologische Bedeutung haben und z. B. in 6 Wochen lang feucht gehaltenen, abgetrennten Cotyledonen von Phaseolus keine Stärkeumsetzung bewirkt hatten. Dagegen werden mit Beginn der Keimung stärkehaltiger Samen erhebliche Mengen Diastase in den Reservestoffbehältern gebildet. Wo also Diastase nachweislich in den Stoffwechsel eingreift, da ist sie so reichlich vorhanden, dass sie in kurzer Zeit durch ihre Wirkung auf feste Stärke deutlich erkannt wird.

In assimilirenden Blättern kommt nur ausnahmsweise Diastase in minimalen Mengen vor, die für die ausgiebigen Stärkeumwandlungen in den Blättern gar nicht in Betracht kommen. Demnach wird die Auflösung der Stärke in den Blättern vom Protoplasma direkt besorgt. Zur näheren Begründung dieser fundamental wichtigen Erkenntniss stellte Verf. noch weitere Versuche an, auf die leider hier nicht näher eingegangen werden kann.

Ebenfalls direkt durch Thätigkeit des Protoplasmas wird die Stärke in den meisten anderen Organen, auch in den Plasmodien von Aethalium, aufgelöst und nur in Spezialfällen — stärkehaltige Reservestoffbehälter zur Zeit des Keimens oder Austreibens, dann auch Bakterien und Pilze — wird Diastase in Masse gebildet und zur Lösung der Stärke verwendet.

Gegen Krabbe (vergl. Ref. p. 149) mit dem sich Verf., wie aus dem Angeführten hervorgeht, in Widerspruch befindet, bemerkt er

noch ausdrücklich, derselbe habe nicht bewiesen, dass das Plasma an der Stärkeauflösung direkt nicht betheiligt sei, sondern nur gezeigt, dass Diastase eine Reihe von Eigenschaften habe, die das lebende Plasma nicht besitze.

Bei der plasmatischen Lösung der Stärke wird letztere natürlich nicht vom Lösungsmittel durchdrungen werden, sondern von Aussen abschmelzen, wobei einzelne Stellen stärker angegriffen werden und so die bekannten bisher auf Wirkung von Diastase gedeuteten Corrosionsbilder entstehen. Der von Krabbe für den Fall einer solchen plasmatischen Lösung geforderte Nachweis der wirkenden Plasmatheilchen in den Corrosionskanälen kann sehr wohl technisch unmöglich sein!

Der von Krabbe gebrachte Nachweis, dass bei der enzymatischen Lösung der Stärke dieselben Erscheinungen auftreten, wie bei der plasmatischen, drängt im Verein mit anderen Erfahrungen über das Verhalten der Enzyme zu der von Ad. Mayer vertretenen Ansicht, dass die Enzyme Organismenreste oder Protoplasmasplitter sind immer noch mit einem Theil der charakteristischen molekularen Bewegung begabt, welche in dem Organismus für einen Theil das Leben ausmachen, dass sie Bestandtheile der Plasmamoleküle selber sind. Diese Auffassung scheint dem Verf. durch die Erfahrung, dass das Plasma unabhängig vom Vorkommen der Stärke Enzym abgiebt, gestützt zu werden. Dann weichen die Resultate des Verf. von den bisherigen Anschauungen nicht so entschieden ab, denn es handelt sich dann nur darum, ob das lösende Agens noch als Bestandtheil des Plasmas oder schon getrennt von ihm wirkt. Die Enzyme aber beanspruchen dann besonderes Interesse, weil sie als Derivate des lebenden Plasmas auch getrennt von den lebenden Zellen in ihren Wirkungen untersucht werden können.

Fermi (230) prüfte zunächst die Wirkung der von Bakterien producirten Fermente auf Gelatine und Fibrin und versetzte, um die direkte Wirkung der lebenden Bakterien auszuschliessen, Gelatine mit Thymol und fügte einige Tropfen der betreffenden Bakterienkultur und dann Sublimat, Carbol-, Salicyl- oder Salzsäure zu oder er tödtete die Bakterien durch 6 Tage lang fortgesetztes, täglich 2 Stunden dauerndes Erhitzen auf 56-60^0, wodurch die Fermente nicht alterirt werden. Um zu beweisen, dass in diesen Versuchen die direkte Bakterienwirkung ausgeschlossen war, brachte er Bakterienmassen von frischen Agarkulturen, die angeblich noch kein Ferment gebildet hatten auf Thymolgelatine unter Zusatz von Nährstoffen und Salicylsäure und beobachtete auch nach langer Zeit keine Verflüssigung.

Um die Fermente von der Gelatine zu isoliren, fällte er zuerst letztere durch 24stündige Behandlung der verflüssigten Gelatine mit

der gleichen Menge 65-75procentigen Alkohols und fällte dann im Filtrat mit absolutem Alkohol das Ferment, welches in Thymolwasser aufgenommen Gelatine und Fibrin löste. Am wirksamsten war das von B. FINKLER-PRIOR isolirte. Milzbrandbacillen, MILLER's Kommabacillus, Bacillus ramosus, Micrococcus ascoformis, B. subtilis, Megaterium bildeten auch auf Kartoffelbrei (aus Kartoffel, Kochsalz und Wasser bereitet) ein Gelatine aber nicht Fibrin lösendes, durch Alkohol gefälltes Ferment, während KOCH's Vibrio, B. FINKLER-PRIOR, Käsespirillen, B. prodigiosus, B. pyocyaneus, Rotzbacillus, B. violaceus und Trichophyton tonsurans auf diesem Nährboden kein solches Ferment bildeten, wohl aber auf Gelatine.

Verf. prüfte dann den Einfluss höherer Temperatur auf die erwähnten Fermente einiger dieser Bakterien. In feuchtem Zustande wird zerstört das Ferment von M. prodigiosus bei 55°, B. pyocyaneus bei 60°, Milzbrand und KOCH's Vibrio bei 65°, B. FINKLER-PRIOR bei 70°. In trockenem Zustande konnte das Ferment von B. FINKLER-PRIOR unbeschädigt 10 Minuten auf 140° erhitzt werden und ebenso verhalten sich vergleichsweise Papain und Trypsin. Bei 4° wirken Trypsin und das Ferment von B. FINKLER-PRIOR nicht auf Fibrin und ebenso wie Papain schwach auf Gelatine. Verf. untersucht dann den Einfluss von Säuren und anderen Körpern auf die Wirkung der Fermente. Bei Gegenwart von 5‰ HCl wirken die Fermente von KOCH's Vibrio, B. FINKLER-PRIOR, M. prodigiosus und B. pyocyaneus nur noch auf Gelatine nicht mehr auf Fibrin; Trypsin und Milzbrandferment ist bei Gegenwart von HCl auch auf Gelatine unwirksam. 1% Sublimat, 5% Carbolsäure oder gesättigte Salicylsäurelösung stört die Wirkung des Fermentes einiger Bakterien, von Pepsin (ausser Salz- und Salicylsäure) und Trypsin auf Fibrin, aber nicht auf Gelatine. Dies findet seine Erklärung wahrscheinlich darin, dass die genannten Agentien einerseits die Fermente schwächen, so dass sie nur noch Gelatine lösen können und andererseits das Fibrin für Fermente unlöslich machen. So wird Fibrin, wenn es 48 Stunden in 1% Sublimat oder 5% Carbollösung gelegen für Pepsin schwer, für alle anderen Fermente ganz unlöslich.

Verf. untersucht weiter, ob die Bakterienfermente ebenso wie Trypsin und Pepsin auf Eiweiss wirken. Fibrin, auf welches von 14 untersuchten Bakterienfermenten nur 5 (B. FINKLER-PRIOR, KOCH's Vibrio, M. prodigiosus, MILLER's B. und Käsespirillen) wirken, wird durch diese in eine durch Kochen unfällbare, durch NO_3H in der Kälte theilweise, in der Hitze völlig fällbare Substanz umgewandelt. Eieralbumin und Blutserum werden von Bakterienfermenten schwerer als von Pepsin und Trypsin angegriffen. Keines der Fibrin lösenden

Bakterienfermente wirkt in Gegenwart von Salzsäure; nur bei Schimmelpilzen wurde ein wie Pepsin nur in Gegenwart von Salzsäure fibrinlösendes Ferment gefunden.

Um zu zeigen, dass auch die Organismen, welche kein gelatinelösendes Ferment produciren und so den Nährboden ausnützen können, mit der Zeit das Nährsubstrat zersetzen, erwähnt der Verf., dass Gelatine, auf welcher Rosahefe im Brütofen kultivirt wurde, ihr Erstarrungsvermögen verloren hatte.

Der Verf. wendet sich dann zu den diastatischen Fermenten und findet unter Anwendung von Kartoffelbreikulturen starke diastatische Wirkung bei B. anthracis, Koch's Vibrio, B. Finkler-Prior, Käsespirillen, B. ramosus, B. Fitz, subtilis, Megaterium, tetragenus und Miller's Bacillus, zweifelhafte bei den Bakterien der Kaninchenseptikämie, der Diphtherie und des Typhus, B. Zopfii und phosphorescens, schwache bei Faecesbacillus, B. pyogenes foetidus, B. aceticus, Heuvibrio, Staphylococcus cer. und flavus, Pneumoniebacillus, B. violaceus, Rotzbacillus, Trichophyton tonsurans, dagegen kein diastatisches Ferment bei Staphylococcus pyogenes citreus, Rosahefe, Soorpilz, M. ascoformis, M. prodigiosus, B. pyocyaneus. Auf die oben angegebene Weise isolirt wurden die diastatischen Fermente von B. anthracis, Koch's Vibrio, B. Finkler-Prior, Käsespirillen, Miller's Bacillus, B. Megaterium, subtilis. Säure produciren auf Kosten der Stärke B. Fitz, Megaterium, Miller's Bacillus, B. violaceus, phosphorescens, Pneumoniebacillus, schwächer auch B. pyogenes foetidus, M. tetragenus, Koch's Vibrio, B. Finkler-Prior, Käsespirillen. Bemerkenswerth sind auch Versuche des Verf., wonach einige der genannten Bakterienformen auch auf stärkefreiem Substrat, wie Gelatine, Bouillon und Blutserum Diastase bilden; diese Versuche wurden in der Weise angestellt, dass steriler Kleister unter Zugabe von Thymol oder Salzsäure mit Tropfen der erwähnten Kulturen versetzt und nach 48 Stunden auf Zucker geprüft wurde. Gummi arabicum, Inulin, Amygdalin und Salicin scheinen durch die Bakteriendiastasen nicht umgewandelt und durch die Bakterien nicht vergohren zu werden. Was die Wirkung der Temperatur auf die Bakteriendiastasen anlangt, so wirken sie bei 4 und 50° noch und werden bei 70°, die von Koch's Vibrio schon bei 60° zerstört. Durch Salzsäure werden sie geschwächt, durch Carbol- und Salicylsäure, sowie durch 10% Sodalösung aber nicht gestört.

Verf. stellt auch aus seinen Resultaten einige zum Beweise dafür zusammen, dass die leimlösenden und die diastatischen Fermente nicht dieselben Körper sind; denn das Ferment von Koch's Vibrio wirkt auf 60° erhitzt leimlösend aber nicht mehr diastatisch, das von B. Finkler-Prior bei 4° nur diastatisch und nicht leimlösend; ausserdem

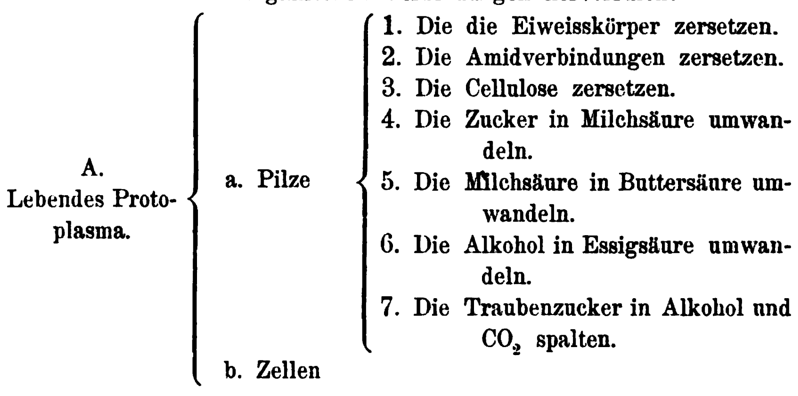
bilden manche Bakterien nur eine Art von Fermenten und solche, welche beide produciren bilden auf Eieralbumin nur ein leimlösendes Ferment.

Weiter wendet sich Verf. zu der Frage, wodurch die Bakterien zur Absonderung eines leimlösenden Fermentes veranlasst würden; sie bilden dies auch in nicht zu verflüssigenden Agarkulturen, in bereits flüssigen Substraten, wie flüssiger Gelatine, flüssigem Blutserum und Bouillon und andererseits in eiweissfreien Peptonkulturen, so dass weder die Starrheit des Nährbodens noch unpeptonisirtes Eiweiss den Reiz für die Fermentbildung geben kann. Andererseits bildeten Bakterien aber in COHN'scher Nährsalzlösung mit oder ohne Zucker bei Abwesenheit von Eiweissstoffen kein leimlösendes Ferment.

Nach diesen und den obenerwähnten Versuchen über Diastasebildung auf stärkefreien Substraten kann nunmehr die Gegenwart von Albuminstoffen beziehungsweise zuckerbildenden Substanzen nicht mehr als Reiz für die Bildung von leimlösenden beziehungsweise diastatischen Fermenten angesehen werden und andererseits WORTMANN's[1] Theorie nicht gehalten werden, wonach Bakteriendiastase nur auf stärkehaltigem aber absolut eiweissfreiem Nährboden gebildet würde. Die Fermentabsonderung dürfte vielmehr eine automatische unter günstigen Verhältnissen unabhängig von äusseren Umständen vor sich gehende, mit dem Lebensprozess der Bakterien innig verknüpfte Funktion sein.

An Stelle der mit Recht von ihm als unpassend bezeichneten veralteten Vereinigung von unorganischen Stoffen und lebenden Pilzen unter dem gemeinsamen Namen Fermente, schlägt Verf. folgende Eintheilung vor:

Agentien organischer Natur, die die Veränderung der verschiedenen unstabilen organischen Verbindungen hervorrufen:



[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 1882.

B. Aus dem lebenden Protoplasma abgesonderte Fermente (Enzyme).	8. Die die Hydratation des Eiweiss (Pepton) hervorrufen.
	9. Die die Stärke in Dextrin und Traubenzucker umwandeln.
	10. Die Rohrzucker in Trauben- und Fruchtzucker umwandeln.
	11. Die Glykoside in Zucker und aromatische Substanzen umwandeln.
	12. Die myronsaures Kali in Zucker und Senföl umwandeln.
	13. Die Fette in Glycerin und Fettsäuren umwandeln.

Die erwähnten Umwandlungen könnten auch chemisch wie folgt gruppirt werden:

a) Einfache Hydratation: No. 8.

b) Spaltungsprozess { durch Wasseraufnahme: No. 1, 2, 3, 9, 10, 11, 12, 13. ohne Wasseraufnahme: No. 7. }

c) Umlagerung der Atome: No. 4, 5.

d) Oxydation: No. 6.

Im Anschluss an KJELDAHL's Versuche stellt **Petzoldt** (234) fest, dass Malzauszug an verzuckernder Kraft desto mehr einbüsst, je länger er vor Zusatz zum Stärkekleister auf eine über 47° liegende Temperatur erhitzt wird. Gegen diesen Kraftverlust kann der Malzauszug durch Zusatz von verzuckerter Maische oder Maltose aber nicht Rohrzucker geschützt werden.

Boidin (229) zeigt, dass Würzen, die ein Chamberlandfilter passirt haben, mehr Maltose im Verhältniss zur Dextrinmenge enthalten als vorher und dass das Filter dann von einer klebrigen Masse, die Dextrinreaktionen zeigt, umgeben ist. An Eiweissstoffen fanden sich nach der Filtration nur $^4/_{10}$ der vorher vorhandenen Menge, während die diastatische Kraft nicht abgenommen hatte; demnach passirt Diastase Chamberlandfilter leichter als Eiweissstoffe und ebenso leicht wie Maltose. Diese Filtrate enthielten keine durch Hitze coagulirbare Stoffe mehr, wonach entgegen der herrschenden Meinung Diastase nicht coagulirbar ist und man kann demnach im Hinblick auf die Angabe von PAYEN und PERSOZ, dass die Diastase desto reiner ist je stickstoffärmer sie ist, daran zweifeln, ob die Diastase mit Recht unter die Eiweissstoffe gestellt wird.

Wilson (237). Ungefähr 1 Kilo (2 englische Pfund) Malz wer-

den 8 Stunden in 10procentigen Alkohol geweicht und das klare Filtrat mit absolutem Alkohol gefällt, der Niederschlag mit Wasser aufgenommen und wieder mit Alkohol gefällt, dies noch zwei Mal wiederholt und durch Trocknen über Phosphorsäure im Vakuum kräftige Diastase als weisses, leichtlösliches Pulver gewonnen. (Nach Wochenschr. f. Brauerei 1890, No. 47.)

Société générale de Maltose (235). Die die Wirkung der Diastase störenden Organismen, besonders Milchsäure- und Buttersäurebakterien sollen durch Zusatz von 15-20 g gewöhnlicher 20procentiger Flusssäure auf 100 Liter Würze, welche aus mit dem doppelten bis dreifachen Volumen kalten Wassers angerührtem Malzschrot bereitet wurde, unschädlich gemacht werden. Die von den Trebern und der Stärke durch Filtriren gereinigte Flüssigkeit ist lange haltbar und enthält die völlig ungeschwächte Diastase, die ausserdem bei 65-70^0 im Vakuum zur Trockne eingedampft werden kann. Die Stärkeverzuckerung mit Hülfe dieser Auszüge oder des trocknen Präparates vollzieht sich bei niedriger Temperatur von 20-30^0 vollständig und unter voller Ausnutzung der verzuckernden Kraft. (Vergl. p. 72.)

---

c) Invertin.

239. Fernbach, A., Sur le dosage de la sucrase (3 mém.). Formation de la sucrase chez l'Aspergillus niger (Ann. de l'Inst. Pasteur 1890, p. 1). — (S. 166)

240. Fernbach, A., Sur l'invertine ou sucrase de la levure (Ann. de l'Inst. Pasteur 1890, p. 641). — (S. 168)

241. Kellner, O., Y. Mori und **M. Nagaoka,** Beiträge zur Kenntniss der invertirenden Fermente (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. XIV, 1890, p. 297). — (S. 164)

242. O'Sullivan, C., and **F. W. Tompson,** Invertase: a Contribution to the History of an Enzyme or Unorganised Ferment (Journal of the Chem. Soc. vol. LVII, 1890, p. 834). — (S. 170)

Kellner, Mori und **Nagaoka** (241) untersuchen die in Japan zur Herstellung von Reiswein und Alkohol benutzte, mehrfach beschriebene stärkeumbildende Substanz des Koji; dieselbe besteht aus von der Kleie befreitem und gedämpften Reis oder Gerste, auf denen durch Sporenaussaat dichtes Mycel von Eurotium Oryzae gezogen wurde,

Die Vegetation dieses Pilzes ruft eine Temperaturerhöhung um 13-17° in der flach ausgebreiteten Reismasse bei einer Lufttemperatur von 25-27° C. hervor. Bezüglich der chemischen Einwirkung des Pilzes auf den Reis finden die Verf., dass hauptsächlich die Kohlehydrate verändert wurden, von denen beim Reis 17,66%, bei Gerste 24,06% während der Kojibildung verschwanden, während beträchtliche Mengen in Maltose, geringere in Glykose übergeführt wurden. Ueber die Fähigkeit des Koji Stärke in gährungsfähigen Zucker überzuführen, hat Atkinson[1] Versuche angestellt, die aber erhebliche Einwände zulassen und deshalb haben die Verff. diese Frage wieder untersucht. Sie brachten meist 200 cbcm Lösung verschiedener Kohlehydrate mit 100 cbcm eines aus 100 g frischem Koji und 500 cbcm kaltem Wasser hergestellten Auszuges zusammen, liessen dieses Gemisch und die Controlllösungen bei 40-50° C. stehen und untersuchten sie im Wild'schen Polaristrobometer. Sie finden, dass in ihren Versuchen das im Kojiauszug enthaltene Ferment 70% des angewandten Rohrzuckers und ebensoviel Maltose invertirt, Milchzucker und Inulin dagegen nicht verändert, aus Stärke aber Maltose und Dextrose bildet. Da das Invertin der Hefe nach besonderen Versuchen der Verff. auf Maltose und Stärke nicht wirkt, so bezeichnen die Verff. das auch diese Körper hydratisirende Kojiferment als verschieden vom Hefeinvertin und von der Malzdiastase, nennen es aber doch vorläufig Invertase. Sie heben hier nicht scharf genug die sehr naheliegende Möglichkeit hervor, dass im Koji mehrere Fermente enthalten sind.

Da es für die Praxis von Bedeutung ist, dass in schlecht ventilirten Räumen oder hohen Haufen das Ferment des Koji unwirksam wird und Verff. fanden, dass in solchem Koji sich Milchsäure anhäuft, untersuchen sie die Einwirkung der Milchsäure auf Kojiextrakt. Sie finden, dass freie Milchsäure in Mengen von 0,1% und darüber die Fermentwirkung allmälig schwächt, in Mengen von 0,05% dieselbe aber begünstigt, wie solches auch für Malzdiastase bekannt ist.

Weiter wird Koji mit gedämpften Sojabohnen, Kochsalz und Anderem zu dem in Japan verbreiteten Nahrungsmittel Miso und der auch in Europa bekannten Sauce Shoyu verarbeitet und das Koji scheint hier als Träger einer Jahre lang anhaltenden Gährung zu wirken. Verff. untersuchen daher die Einwirkung des Kochsalzes auf die Verzuckerung löslicher Stärke durch das Kojiferment. Dieselbe wird dadurch sehr herabgesetzt, hört aber auch bei Anwesenheit von 15-20% der Flüssigkeitsmischung an Kochsalz nicht ganz auf.

---

[1]) Transact. of the Chem. Soc. London 1881.

Fernbach (239) hat in zwei früheren Arbeiten[1] auf die Schwierigkeiten der quantitativen Bestimmung des Invertins hingewiesen und beschreibt nun eine diese Schwierigkeiten überwindende Methode. Als Mengeneinheit des Invertins wählt er die, welche 20 Centigramm Rohrzucker in einer Stunde bei 56° in Gegenwart von $^1/_{100}$ Essigsäure invertirt, wobei die von dieser Säure allein invertirte Zuckermenge nicht mitgerechnet ist. Um das Invertin zu messen, bestimmt man zuerst den Säuregehalt der Flüssigkeit und dann vorläufig die Menge der Flüssigkeit, welche unter den angegebenen Bedingungen 20 Centigramm Rohrzucker invertirt, d. h. die Einheit an Invertin enthält; zu dem Zweck lässt man in einer Reihe von Röhren das in 1, 2, 3 etc. ccm Flüssigkeit enthaltene Invertin 1 Stunde bei 56° wirken und bestimmt nach Aufhebung der Invertinwirkung durch Kali oder Natron die gebildete Menge Invertzucker. Differiren hierbei die 1 resp. 4 ccm Flüssigkeit enthaltenden Röhren noch nicht um ein Centigramm so ist keine oder eine zu vernachlässigende Menge Invertin vorhanden. Spuren von Invertin werden durch Vergleich mit einem Controllversuch gefunden, in dem die Flüssigkeit zur Zerstörung des etwa vorhandenen Invertins aufgekocht wurde. Um andererseits die Menge des Invertins genau zu bestimmen, sucht man aus der oben erwähnten Versuchsreihe das Gefäss aus, in dem 25-30 Centigramm Invertzucker gebildet sind, macht neue Versuche mit derselben, dann einer etwas grösseren und einer etwas kleineren Menge der invertinhaltigen Flüssigkeit, wie sie in dem eben ausgesuchten Versuch benutzt wurde. Aus diesen neuen Versuchen kann man dann die Flüssigkeitsmenge, welche die Einheit an Invertin enthält, berechnen. Bezüglich der Fehlerquellen, welche bei solchen Invertinbestimmungen zu berücksichtigen sind, sei auf das Original verwiesen. Der Verf. hat dann die Invertinbildung in Parallelkulturen von Aspergillus niger verglichen und bei Anwendung von je 400 ccm RAULIN'scher Flüssigkeit und 17,6 g Rohrzucker gefunden

nach Tagen	Rohrzucker g	Zucker verbraucht g	Invertin in Einheiten	Gewicht der Pflanzen g	Asche g
2	4,4	4,9	0	3,105	0,116
3	0,3	12,8	50	6,200	0,171
4	0	17,6	67	7,835	0,197
6	0	17,6	104	6,870	0,200
8	0	17,6	285	5,580	0,198

[1]) Ann. de l'Inst. PASTEUR 1889.

Demnach bleibt bis zum völligen Verbrauch des Zuckers ein Theil als Rohrzucker vorhanden. Die Invertinmenge steigt merkwürdiger Weise erst dann beträchtlich, wenn der Zucker fast verbraucht ist und genügt andererseits vorher nicht zur Inversion des verschwindenden Zuckers. Zur Erklärung dieser auffallenden Beobachtung bemerkt Verf. vorläufig, dass demnach wohl der Schauplatz der Inversion in das Innere der Zellen zu verlegen sei und das Invertin die Zellen erst nach Veränderung des Inhaltes derselben verlässt. Von dem Zeitpunkte an, wo der Zucker verschwunden ist, nimmt das Gewicht des Aspergillus ab und das Mycel wird weich und zerreisslich, während sein Aschengewicht konstant bleibt. Diese Veränderung, mit der die Invertinzunahme in der Flüssigkeit Hand in Hand geht, beruht demnach auf dem Verschwinden von organischen Stoffen und zwar Reservestoffen, welche als mit Jod braunrothwerdende Glykogenmassen vorher im Mycel nachzuweisen sind. Nach anderen Versuchen des Verf. scheint das Invertin um so reichlicher an die Flüssigkeit abgegeben zu werden, je unvollkommener der Luftzutritt zu der Kultur ist. Die Anhäufung des Invertins in der Flüssigkeit hängt nur zeitlich, nicht ursächlich, wie Wasserzug auf Grund seiner Beobachtungen bei Fusarium meinte, mit der Sporenbildung zusammen. Verf. zeigt vielmehr, dass ausgewaschene Aspergillusrasen wohl an Wasser Invertin abgeben, aber nicht an eine Lösung, die ihnen von Neuem Zucker bietet. Andererseits wird Invertin bei unterdrückter Sporenbildung selbst bei Gegenwart von Zucker abgegeben, wenn die Zellen auf andere Weise in krankhaften Zustand versetzt werden, so wenn man sie mit wenig oder gar keiner Luft in Glasröhren einschmilzt. Um das Invertin in den Zellen nachzuweisen, öffnet Verf. durch Zerreiben des Mycels auf einer Glasplatte fast alle Zellen und wäscht mit Wasser aus. Die Flüssigkeit ist dann schwach sauer, wonach der Zellinhalt an manchen Stellen ziemlich stark sauer sein muss, damit ein Säureüberschuss nach Neutralisirung des alkalischen Plasmas bleibt; diese sauren Stellen würden für die Wirkung des Invertins günstig sein. In dem Zellinhalt finden sich auffallender Weise auch kleine Mengen Rohrzucker.

Verf. hat dann auch in Parallelkulturen die zu verschiedenen Zeiten in den Zellen vorhandenen Invertinmengen bestimmt:

Nach Tagen	Invertin in der Flüssigkeit	Invertin in den Zellen
1	2	58
2	3	47
3	5	45
4	10	44
5	13	35

Man findet also da die auffallende Thatsache, dass das gesammte Invertin gleich zu Anfang in den Zellen enthalten ist und nur successive abnimmt. Demnach darf man einem Organismus die Fähigkeit der Invertinbildung noch nicht absprechen, wenn man in seiner Kulturflüssigkeit kein solches findet.

Fernbach (240) untersucht im Anschluss an seine Studien über das Invertin des Aspergillus niger nun auch dasjenige verschiedener Hefen und findet, dass bei letzteren die Eigenschaften des Invertins selbst mit der Heferasse wechseln. Er verwendete Bierhefe aus der Brauerei Tantonville, Champagnerhefe, Saccharomyces Pastorianus und eine pale-ale-Oberhefe meist in Reinkultur. Gelegentlich macht Verf. hierbei die Bemerkung, dass Hefenwasser hergestellt durch eine Viertelstunde dauerndes Kochen von Hefe Invertin enthält, wenn es nicht sofort auf einem Heisswassertrichter filtrirt wurde, weil ein Theil des Invertins im Innern der Hefezelle durch die Hitze nicht zerstört wird und beim Abkühlen herausdiffundirt. Man muss also hinsichtlich der Invertinproduktion von Organismen, die man in Hefenwasser kultivirt, vorsichtig sein.

Das Invertin gewinnt Verf. aus der Hefe durch Maceration in kaltem Wasser und findet die Diffusion desto langsamer, je jünger die Hefezellen sind. Durch äusserst geringe Spuren von Alkali (Millionstel), die durch Reagenspapiere kaum nachweisbar sind, wird die Thätigkeit des Hefeinvertins ebenso wie dessen von Aspergillus niger schon beeinträchtigt. Dagegen zeigen verschiedene Invertine bemerkenswerthe Unterschiede hinsichtlich der Resistenz gegen Essigsäure. Die optimale Wirkung zeigt Invertin von Aspergillus bei Gegenwart von $^1/_{100}$ Essigsäure, das von Tantonville-Hefe und Champagnerhefe bei $^1/_{5000}$, das von S. Pastorianus und pale-ale-Hefe bei $^1/_{2000}$. Ein auffallender Unterschied zwischen den Invertinen aus den genannten Hefesorten und dem aus Aspergillus liegt auch darin, dass erstere fast quantitativ durch Porzellanfilter gehen, letzteres fast völlig davon zurückgehalten wird.

Für die quantitative Bestimmung des Invertins setzt Verf. als Einheit desselben hier eine Menge fest, die bei 54-56° in 1 Stunde bei Anwesenheit der günstigsten Essigsäuremenge 20 Centigramm Zucker invertirt. Um das gesammte Invertin aus einer Hefeportion zu gewinnen, hebt er die Kulturflüssigkeit von der Hefe ab, suspendirt die Hefe dann in sterilem Wasser, saugt sie steril in ein einarmiges Pasteur'sches Rohr und schmilzt dieses luftfrei zu, da sich das Invertin leicht durch Oxydation zersetzt; nach 5-6 Tagen bei 30-35° hebt er das Wasser von der Hefe ab, setzt neues Wasser zu und schmilzt wieder zu und so fort, bis die Hefe kein Invertin mehr abgiebt, was

manchmal über einen Monat dauert. Das Verfahren ist also sehr umständlich. Aus der invertinabgebenden Hefezelle verschwindet der Inhalt successive gänzlich und die Zellen sind am Schluss der Prozedur meist todt. Auffallender Weise wird in gehopfter Bierwürze am meisten Invertin von der Hefe gebildet, wo letztere gar keinen Rohrzucker zu invertiren hat, aber die Menge der Invertinbildung hängt überhaupt gar nicht von dem anwesenden Zucker sondern von den Eiweissstoffen ab. Invertin wirkt nicht auf Maltose, aber Verf. glaubt, dass die Frage nach einem Maltose invertirenden Ferment im Hinblick auf BOURQUELOT's Anzeige eines solchen bei auf Maltose wachsendem Aspergillus wieder aufgenommen werden müsse.

Verf. diskutirt nun näher seine Versuche über die Menge der in Würze gebildeten Invertinmenge. Nebenbei bemerkt er da, dass in den Kulturen das Hefegewicht zuerst steigt bis kurz vor dem Zeitpunkt, wo der ganze Zucker verbraucht ist, und dann sinkt. Die Abhängigkeit der Invertinmenge von der Anaërobiose gründet sich auf sehr komplizirte Verhältnisse. Doch wächst im Allgemeinen die Invertinmenge in anaërobiotischen Kulturen bis zu einem Maximum, um sich dann zu vermindern. In Kulturen bei Luftzutritt vermindert sich dagegen das Invertin schon sehr bald durch Oxydation. Die Invertinmenge im Innern der Zellen schwankt in demselben Sinne wie die der übrigen Inhaltsbestandtheile. In Rohrzuckerlösungen (mit eau de touraillons, Infus vom Abfall bei der Malzbereitung) bilden die Hefen, von Ausnahmen abgesehen, auffallender Weise viel weniger Invertin, als in Maltoselösungen, trotzdem sie im ersteren Falle allein doch Verwendung für dieses Invertin haben und trotzdem sie in den Rohrzuckerlösungen auch recht kräftig wachsen. Aber weitere Versuche zeigen dem Verf., dass die Natur des Zuckers doch nur untergeordneten Einfluss auf die Menge des gebildeten Invertins hat und dass die Natur der der Hefe gebotenen Stickstoffverbindung das ausschlaggebende Moment ist. Denn eau de touraillons mit Maltose oder mit Rohrzucker gab ebensowenig Invertin, trotzdem die gewachsene Hefe ebensoviel Stickstoff enthielt, wie die in Würze gezogene und nach der Ernte noch viel Stickstoff in der Flüssigkeit war. Dagegen wird in Hefenwasser ebensoviel Invertin gebildet wie in Würze, trotzdem die Menge des in dem Hefenwasser enthaltenen organischen Stickstoffs fast eben so gross war, wie die im eau des touraillons enthaltene. Demnach kommt es auf die Qualität der Stickstoffverbindungen an. Dagegen wird eau des touraillons sehr günstig für Invertinbildung durch Peptonzusatz und zwar bei gleichzeitigem Maltosezusatz günstiger als mit Rohrzucker und selbst günstiger als Bierwürze. Die Natur des Zuckers ist also von Einfluss auf die Invertinbildung nur wenn die Stickstoff-

nahrung für letztere günstig ist. Zusatz von phosphorsaurem Ammon zum Hefenwasser ist für Invertinbildung schädlich. Ein deutlicher Beweis für die Bedeutung der Stickstoffnahrung liegt darin, dass in fünfprocentigem und achtprocentigem Hefenwasser auch Invertinmengen, die im Verhältniss wie 5 : 8 stehen gebildet werden. Das benutzte Hefenwasser war aus der Tantonville-Hefe hergestellt und diese Hefe auch bei den bisher erwähnten Versuchen ausgesäet. Die anderen drei obengenannten Hefen gaben nun aber in dem gleichen Hefenwasser viel weniger günstige Resultate in Bezug auf Invertinbildung wie die Tantonville-Hefe. Diese Erfahrungen fordern zur Vorsicht hinsichtlich der Uebertragung von Resultaten auf selbst nahe verwandte Spezies auf.

Im Allgemeinen zeigen die Versuche des Verf., dass die Frage der Invertinbildung eine viel komplizirtere ist, als man von vornherein denken mochte.

O'Sullivan und **Tompson** (242). Die Arbeit will zur Aufklärung der Wirkungsweise der Fermente und der Zusammensetzung derselben beitragen und beschäftigt sich speziell mit Invertin oder Invertase, welchen letzteren Namen die Verff. der charakteristischen Endung wegen vorziehen. Sie geben zuerst eine eingehende Litteraturübersicht und stellen dabei auch die bisher gebräuchlichen Isolirungsverfahren zusammen.

Die Untersuchung der Geschwindigkeit der durch das Invertin bewirkten Umsetzung des Rohrzuckers liefert eine regelmässige Curve, deren Verlauf sich nicht ändert, wenn auch die verschiedenen Versuche mit verschieden stark concentrirten Rohrzuckerlösungen, unter verschiedenem Säurezusatz u. s. w. angestellt werden.

Diese Curve entspricht im Wesentlichen dem von Harcourt (Journ. chem. Soc. t. XX) aufgestellten Gesetz, wonach die Intensität der Umsetzung proportional der Menge der Substanz ist, so lange die Bedingungen der Umsetzung abgesehen von der Verminderung der umzusetzenden Substanz konstant bleiben.

Die Zeit, die zur Erreichung eines bestimmten Inversionsstadiums nöthig ist, steht im umgekehrtem Verhältniss zur Menge des vorhandenen Invertins, vorausgesetzt, dass der Säuregehalt der Flüssigkeit der für die betreffenden Verhältnisse günstigste ist. Die Grösse dieses optimalen Säuregehaltes ist umgekehrt proportional der Temperatur und direkt proportional der Menge und den Eigenschaften des verwendeten Invertinpräparates, ohne dass die Verff. in Bezug hierauf ein Gesetz anzugeben im Stande wären. Die günstigste Concentration der Rohrzuckerlösung bei 54° ist 20 g auf 100 ccm, verdünntere

Lösungen sind erheblich, concentrirtere bis zu 40 g auf 100 ccm nur wenig ungünstiger. Die Inversionsintensität steigt schnell bis eine Temperatur von 55-60° erreicht ist; bei 65° wird Invertin langsam, bei 75° schnell zerstört. Bei niederen Temperaturen bis zu 30° verdoppelt sich die Umsetzungsgrösse bei einer Temperaturerhöhung von 10° C. entsprechend HARCOURT's Gesetz; über 30° steigt die Umsetzungsgrösse langsamer.

Was die Gegenwart fremder Körper in den zu invertirenden Lösungen anbelangt, so sind kaustische und Erdalkalien sehr schädlich für Invertin. Kleine Mengen Schwefelsäure begünstigen die Inversion sehr, aber ein kleiner Ueberschuss ist sehr schädlich. Die invertirende Kraft dieser kleinen Schwefelsäuremengen selbst kommt bei den Versuchstemperaturen nicht in Betracht. Genaue Einhaltung des günstigsten Säuregrades ist bei allen Inversionsversuchen sehr wichtig; bei 60° wirkt Invertin nur unter diesen Umständen.

Alkohol setzt die Intensität der Inversion herab und zwar 5% Alkohol ungefähr um die Hälfte. Das kräftigste Invertinpräparat, welches die Verff. unter Händen hatten invertirte pro Minute bei 54° 22mal sein Eigengewicht an Rohrzucker; sie glauben, dass die Thätigkeit einer gegebenen Invertinmenge ins Unbegrenzte fortgeht, denn die Inversion ging in einem Versuche noch weiter, trotzdem das Invertin schon das 100,000fache seines Eigengewichtes an Rohrzucker umgewandelt hatte. Da der Verlauf der Inversion ähnlichen Gesetzen unterliegt, wie sie HARCOURT (s. oben) für einfache anorganische Reaktionen gefunden hat, so folgern die Verff., dass die Inversion eine einfache chemische Reaktion ist und keinerlei Lebenskraft dabei im Spiele ist. Die invertirende Kraft eines Präparates drücken die Verff. durch die Zahl der Minuten aus, die zur Inversion einer gegebenen Rohrzuckermenge unter bestimmten Bedingungen nöthig sind und bestimmen diese Zahl, indem sie 50 g Rohrzucker zu 250 ccm lösen, bei 15,5° im Wasserbade halten und wenn die Temperatur konstant ist 0,5 g des zu prüfenden invertirenden Materials zufügen.

Das Gemisch wird in fünf Kölbchen vertheilt und je 0,1, 0,3, 0,6, 1,0 und 1,4 ccm Zehntelnormalschwefelsäure zugesetzt. Nach einer Stunde wird in einer Probe aus dem mittelsten Kölbchen die Inversion durch Kali sistirt und bestimmt; daraus berechnet man die Zeit, nach welcher der Inhalt der Kölbchen gerade optisch inaktiv geworden ist, bricht wenn diese Zeit ziemlich verlaufen ist, die Versuche in den vier anderen Kölbchen ab, polarisirt und berechnet aus dem Resultat, welches das in der Inversion am weitesten vorgeschrittene Kölbchen ergeben hat, die gewünschte Zahl. Die Inversionsprodukte haben keinen Einfluss auf die Intensität (rate) der Inversion. Invertin-

lösungen widerstehen einer Temperatur von 25° bei Gegenwart von Rohrzucker besser, woraus die Verff. folgern, dass eine Verbindung zwischen Invertin und Rohrzucker sich bildet und schliesslich das Invertin in Verbindung mit dem Invertzucker bleibt, dass diese Bindung sich aber löst, wenn Rohrzucker zugegen ist.

Die Verff. wenden sich dann zur Reindarstellung von Invertin aus Hefe und bemerken, dass gepresste Brauereihefe sich Monate lang ohne zu faulen aufbewahren lässt (?? Ref.) und dabei nach einiger Zeit in eine schwere, gelbe Flüssigkeit übergeht, wobei die invertirende Kraft des Präparates etwas zunimmt. Das Invertin befindet sich ganz in der abzufiltrirenden Flüssigkeit und ist daraus mit geringem Verlust abzuscheiden, wenn man so lange Alkohol zusetzt, bis das Gemisch 47% enthält. Das gefällte Invertin kann dann mit Alkohol der gleichen Stärke gewaschen und mit absolutem Alkohol und im Vakuum getrocknet oder durch 10-20procentigen Alkohol gelöst und abfiltrirt werden. Bei dieser Prozedur gingen in einem Falle 12,3% des in der Hefeflüssigkeit enthaltenen Invertins verloren. Die Verff. konnten das Invertin von Asche fast befreien, weitere Reinigung scheiterte aber an der leichten Zersetzlichkeit des Invertins. Die invertirende Kraft gepresster englischer Hefe schwankte zwischen 1000 und 3000 Minuten (siehe oben); die des isolirten Invertins war auf Trockensubstanz bezogen im besten Falle = 25,1 Minuten und die des reinen Invertins schätzen die Verff. auf 22,5 Min. Trockne Hefe enthält 2-6% Invertin. Bei der Invertindarstellung aus Hefeflüssigkeit wurde ausserdem ein charakteristischer Eiweisskörper erhalten. Die Verff. studiren auch noch eingehend sieben Zersetzungsprodukte des Invertins, die zu einer Reihe, den Invertanen gehören.

Nach den bei der Analyse erhaltenen Zahlen bestehen diese Invertane aus einem Eiweisskörper und einem Kohlehydrate und zwar glauben Verff., dass sie Verbindungen aus dem oben erwähnten Hefeeiweisskörper und η-Invertan sind und dass η-Invertan aus dem Hefeeiweiss und einem Kohlehydrat besteht. Invertin selbst fassen sie ebenfalls als ein Glied dieser Reihe, als β-Invertan auf. Wegen weiterer Einzelheiten muss auf das Original verwiesen werden.

---

d) Pepsin.

243. **Dubois, Raphael,** Sur le prétendu pouvoir digestif du liquide de l'urne des Népenthes (Compt. rend. de l'acad. Paris t. CXI, 1890, p. 315). — (S. 173)

Hierher gehört auch das Referat über Ferranini, De la dose antiseptique et de la dose antipeptique de diverses substances, welches in Folge eines durch den Titel dieser Arbeit verursachten Versehens des Herausgebers auf S. 43 gestellt wurde.

Dubois (243) fand, dass Flüssigkeit aus Urnen von Nepenthes, die noch geschlossen aber im Begriff waren sich zu öffnen, Eiweiss nicht löste und nach einiger Zeit dauernder Berührung mit diesem Körper kein Pepton enthielt, wenn Mikroorganismen fern gehalten wurden. Flüssigkeit aus offenen Urnen löste dagegen kräftig Eiweiss und enthielt natürlich Bakterien. Verf. hält sich für berechtigt hieraus zu schliessen, dass diese Eiweissverdauung das Werk von Bakterien und Nepenthes keine insektenfressende Pflanze sei.

---

e) Labferment.

244. **Arthus, M.,** et **C. Pagès,** Recherches sur l'action du lab et la coagulation du lait dans l'estomac et ailleurs (Arch. de physiologie V. série, t. II, 1890, p. 331). — (S. 173)
245. **Arthus, M.,** et **C. Pagès,** Sur le labferment de la digestion du lait (Arch. de physiologie V. série, t. II, 1890, p. 540). — (S. 174)
246. **Lea, A. S.,** and **W. L. Dickinson,** Action of Rennin and Fibrin Ferment (Journ. physiol. vol. XI, p. 307). — (S. 175)

Arthus und **Pagès** (244). Hammarsten hat schon gezeigt, dass möglichst reines, von Zucker, Fett und Aschensalzen befreites Caseïn durch Labferment nicht gefällt wird, wohl aber wenn man noch phosphorsauren Kalk zusetzt und folgerte hieraus, dass dieses Caseïn durch das Labferment verändert wird. Verff. nehmen diese Untersuchungen wieder auf und operiren mit Kuhmilch und Hansen's Käselabtabletten. Sie zeigen, dass Milch, die durch oxalsaures Kali vom Kalk befreit

wird, von Lab nicht direkt, wohl aber beim Erwärmen oder auf Zusatz von Chlorcalcium gefällt wird; dabei entsteht bei 60-70° ein compaktes, bei 100° ein flockiges Coagulum. Frische, nicht entkalkte Milch wird durch kleine Mengen Lab, die unter gewöhnlichen Umständen erst spät Coagulation veranlassen würden, ebenfalls so verändert, dass sie durch Erwärmen oder Chlorcalciumzusatz gefällt wird. Die Coagulation der Milch durch Lab zerfällt demnach in zwei Phasen, erstens die chemische Umwandlung des Caseïns in wahrscheinlich mehrere, noch zu untersuchende Körper und die Fällung derselben durch Kalksalze.

Die Caseïn umwandelnde Wirkung des Labferments wird durch niedere Temperatur verlangsamt, durch kaustische und kohlensaure aber nicht durch doppelkohlensaure Alkalien retardirt oder aufgehoben, durch verdünnte Säuren, auch Kohlensäure und kleine Mengen von Erdalkalisalzen beschleunigt. Dagegen kann man, da das Ferment keinen Einfluss auf die Fällung hat, dasselbe, nachdem es auf das Caseïn gewirkt hat, durch Alkalien zerstören, ohne die nachherige Fällung durch Kalksalze zu beeinträchtigen. Diese Coagulation durch Kalksalze geht auch bei niederer Temperatur, bei 0° und in saurer, neutraler oder schwach alkalischer Lösung vor sich. Anwesenheit von durch Lab noch nicht verändertem Caseïn erschwert die Fällung. Ebenso coagulirend wie die Salze des Calciums wirken die von Baryum und Magnesium aber nicht die der Alkalien.

Wie in der vorigen Arbeit von **Arthus** und **Pagès** (245) erwähnt wurde, fällt aus der mit Labferment behandelten Milch bei 70-80° ein compaktes, bei 100° ein flockiges Coagulum; es sind dies die beiden unter Einwirkung des Labfermentes entstandenen Umwandlungsprodukte des Caseïns. Bei 70-80° fällt das Caseogen als Caseum aus; es ist auch durch verdünnte Säuren fällbar wie Caseïn, unterscheidet sich aber von diesem durch seine Fähigkeit durch Wärme coagulirt zu werden und mit Erdalkalisalzen unlösliche Verbindungen zu geben. Vom Caseum unterscheidet es sich dadurch, dass es in mit oxalsaurem Kali versetzter Milch in Lösung bleibt. Die zweite durch Einwirkung von Lab entstehende, bei 100° coagulirende Substanz ist der Eiweisskörper des Milchserums. Es ist dies eine Albumose, denn sie wird weder durch Essigsäure, noch durch Kochsalzpulver, noch durch Kohlensäure, aber durch Krystalle von schwefelsaurem Ammon, theilweise durch Kochen und reichlicher durch Chlorcalcium gefällt; sie giebt keine Peptonreaktion. Da sie im Thier der Magenverdauung anheimfällt, gehört sie zu der von Kühne durch die Vorsilbe Hemi bezeichneten Gruppe und möge demnach Hemicaseïnalbumose heissen. Die als Caseum zu bezeichnenden Körper entstehen aus Caseogen durch Einwirkung von Erdalkalisalzen. Das gewöhnliche Caseum unterscheidet

sich von Caseïn durch geringere Löslichkeit in Alkalien und Säuren und durch konstanten Kalkgehalt.

Verf. weist bei dieser Gelegenheit auf die Unterschiede zwischen Fällung, Coagulation und Verkäsung (caséification) des Caseïns hin. Gefällt wird Caseïn durch Essigsäure bei gewöhnlicher Temperatur und geht dann nach Neutralisation der Säure wieder in Lösung. Nicht ebenso gefällt wird Caseïn in der Wärme bei Anwesenheit von Säure, denn es löst sich dann nach Neutralisation nicht wieder; dieser Vorgang sei mit Coagulation bezeichnet, während der oben geschilderte unter dem Einfluss von Lab und Kalksalz vor sich gehende Prozess der Caseumausscheidung Verkäsung heissen mag.

Weiter machen Verff. noch Angaben über die Umwandlung der Milch im Thiermagen. Im Magen junger Säugethiere geht die beschriebene Verkäsung der Milch vor sich und man findet einige Minuten nach dem Saugen dort Caseum und Hemicaseïnalbumose. Noch nicht so weit vorgeschritten war der Prozess bei einem zwei Tage alten Hunde, dem eine halbe Stunde vorher Kuhmilch gegeben war, denn die Milch war im Magen noch flüssig, coagulirte aber beim Kochen. Bei erwachsenen Schweinen und Hunden fanden Verff. Labferment nur in saurem, nicht in alkalischem Mageninhalt und erhielten es bei Maceration von Magenschleimhaut in mit $2^0/_{00}$ Salzsäure versetztem Wasser stets; bei Maceration der Schleimhaut in reinem Wasser war das Enzym dagegen nicht nachzuweisen, kam aber zum Vorschein, wenn dem Wasser nach der Maceration Salzsäure zugesetzt wurde. Wenn daher im Magen erwachsener Thiere auch nicht immer Labenzym sich findet, so ist doch stets daselbst eine Vorstufe dieses Fermentes das Prolab vorhanden, aus dem unter Einwirkung der im Magen enthaltenen Salzsäure Lab entsteht.

Die Hemicaseïnalbumose wird bereits im Magen verdaut und absorbirt, das Caseum erst unter dem Einfluss des Pankreas; wenn man daher den Pylorus zubindet verschwindet erstere trotzdem, letzteres nicht.

Diese Untersuchungen der Verff. werden auch für das Studium der Einwirkung der Gährungsorganismen auf Milch von besonderem Interesse sein.

Lea und **Dickinson** (246) finden die Angabe von Fick (Pflüger's Archiv Bd. XLV p. 293) nicht bestätigt, wonach das Labferment, welches die Verff. als Rennin bezeichnen, sich dadurch scharf von anderen Fermenten unterscheiden sollte, dass die Moleküle des ersteren nicht mit allen Molekülen der Substanz, auf die sie wirken sollen, in Berührung zu kommen brauchen und doch die Umwandlung, wenn sie in einem Theile der Substanz unter Einwirkung des Fermentes begon-

nen hat, sich durch die ganze Substanz fortpflanzt. Die Verff. schichten Milch auf Lablösung und beobachten nach einigen Minuten Gerinnung an der Berührungsfläche, während die darüber stehende Milch noch mehrere Stunden flüssig bleibt; wenn dagegen die Fermentlösung von vornherein unter die Milch gemischt wurde, so gerann dieselbe in einigen Minuten. Demnach glauben die Verff., dass in den ersteren Versuchen die schliessliche Gerinnung in Folge der Vertheilung des Fermentes in der Flüssigkeit durch Strömungen herbeigeführt wird, wofür auch spricht, dass die Gerinnung in engeren Gefässen schneller erfolgt. (Nach J. Chem. Soc. 1890.)

---

f) Harnstoffferment.

247. **Miquel, P.,** Étude sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée (Ann. de microgr t. I, 1889, p. 414, 470, 506, 552; t. II, 1889, p. 53, 122; 1890, p. 145, 367, 488). — (S. 176)

248. **Miquel, P.,** Sur le ferment soluble de l'urée (Compt. rend. de l'acad. Paris t. CXI, 1890, p. 397). — (S. 179)

Miquel (247) begann bereits 1889 die Publikation dieser ausführlich und gründlich angelegten Arbeit über Harnstoffgährung, die zuerst eine geschichtliche Uebersicht, dann die Verfahren zur Trennung und Untersuchung der betreffenden Organismen, dann die genaue Beschreibung von zwölf solchen Organismen bringen wird, die Verf. in Pilze und Bakterien der Harnstoffgährung trennt, wobei unter letzteren die nach ihrer physiologischen Eigenschaft benannten Gattungen Urobacillus, Urococcus und Urosarcina zu stehen kommen. Die Speciesbeschreibung bringt zuerst Urobacillus Pasteurii, einen besonders kräftigen Harnstoffgährungserreger, den Verf. vielfach in Abwässern, Fluss- Brunnen- und Quellwasser fand. Derselbe wandelt 3 g Harnstoff per Stunde um (20 g Harnstoff im Liter Peptonbouillon) und vergährt den Harnstoff auch noch vollständig, wenn derselbe in einer Menge bis zu 140 g im Liter vorhanden ist. Als Curiosum sei ein Fall angeführt, wo bei sehr reichlicher Ernährung 100 g Harnstoff im Liter in 48 Stunden umgewandelt wurden. Urobacillus Duclauxii ist ebenfalls in Abwässern und Flüssen, wie in Luft verbreitet und ist in 19 % der Fälle der Erreger der spontanen Harngährung; er vergährt 1,5-1,6 g Harnstoff in der Stunde (20 g im

Liter) arbeitet also viel langsamer, als der vorhin erwähnte; mehr als 95 g Harnstoff im Liter verträgt er nicht. U. Duclauxii stellt in den Gährflüssigkeiten Fäden dar, die aus in Harn 0,6-0,8 μ, in alkalischer Bouillon bis 1 μ breiten und 2 (in Gelatine) -10 μ (in Flüssigkeiten) langen, beweglichen Stäbchen bestehen, die in spindelförmig anschwellenden Gliedern wenn auch selten Sporen bilden, wie Verf. glaubt. Das Individuum dieser Form gährt sehr stark, da 1 Gewichtstheil Bakterien 4000 Theile Harnstoff umsetzt.

Von grosser Wichtigkeit sind die Ausführungen des Verf. über die Natur des bisher als Harnstoffgährung bezeichneten Vorganges. Er findet, dass nicht ein Theil des Harnstoffs zum Aufbau der jene Gährung erregenden Bakterien verbraucht wird, sondern letztere Pepton und ähnliche Körper dem Harnstoff als Stickstoffquelle weit vorziehen. Auch wird der Eiweissstickstoff in den Harnstoffkulturen nicht vermehrt, sondern vermindert. Diese Erfahrungen und das im Verhältniss zum umgesetzten Harnstoff sehr kleine Gewicht an gährungserregenden Zellen führen Verf. zu der Ueberzeugung, dass diese Organismen nicht direkt den Harnstoff umwandeln, sondern durch ein ausgeschiedenes Ferment, welches Verf. Urase nennt. Kohlensaures Ammon entsteht aus Harnstoff also nicht durch Gährung, sondern durch biogenèse, um der Nomenklatur des Verf. zu folgen (vergl. die älteren Angaben von Musculus etc.). Zur Demonstration dieser Fermentwirkung fülle man einen Schenkel eines U-förmigen Kulturgefässes mit Peptonbouillon, den anderen mit in Wasser gelösten Harnstoff ($40^0/_0$), kultivire in ersterem Schenkel Harnstoffbakterien, mische dann den Inhalt beider Schenkel und halte den Apparat bei 55^0, bei welcher Temperatur die Harnstoffbakterien absterben, die Urase aber noch wirkt.

Bei verschiedenen Gährungen glaubt Verf. gefunden zu haben, dass Stoffe producirt werden, die unabhängig von der vegetirenden Zelle chemisch wirken, aber äusserst leicht zersetzlich sind und ausserhalb der Zelle bald zerstört werden. Zwischen diesen Körpern und den verhältnissmässig resistenten, bisher bekannten Fermenten steht die Urase in der Mitte. In harnstofffreien Kulturen wenig aktiver Harnstoffgährungserreger wird sie im Augenblick ihres Entstehens zerstört. In günstigen und mit äusserster Vorsicht behandelten Kulturen sehr aktiver solcher Bakterien aber wird Urase von der einzelnen Zelle wohl in einer ihr Eigengewicht weit übersteigenden Menge producirt, so dass die Flüssigkeit bedeutende Harnstoffmengen in sehr kurzer Zeit umwandelt. Die leichte Zersetzlichkeit solcher Uraselösung führt aber zu der Vorstellung, als habe man hier lebendes, in der Flüssigkeit, aber nicht hinter dem Schutze der Zellwand befindliches

Plasma vor sich. Durch Fällung mit Alkohol etc. wird Urase mindestens sehr stark geschädigt. Aus 20 g Pepton glaubt Verf. mit Urobacillus Duclauxii eine Urasemenge erhalten zu können, welche 5 Kilo Harnstoff umwandelt. Nähere Angaben über Isolirung der Urase macht Verf. noch nicht.

Weiter kann auf diesen bereits vor 1890 erschienenen Theil der Arbeit aus Mangel an Raum leider nicht eingegangen werden, zumal dem Ref. die Abhandlung nicht ganz lückenlos zur Verfügung steht.

Der Verf. fährt dann in der Besprechung des Urobacillus Duclauxii weiter fort und erwähnt, dass Harn nicht an und für sich, sondern erst nach Zusatz von Pepton für diese und andere Bakterienformen ein günstiges Nährsubstrat ist. Kräftige Kulturen des Urobacillus Duclauxii werden nur in alkalischen Substraten erzielt; in solchen bildet er beträchtliche Mengen Urase. Gelatine verflüssigt er nach Monaten, aber nur wenn dieselbe Harnstoff enthält. Für Versuche mit diesem Bacillus bei Sauerstoffabschluss verwendet Verf. Flüssigkeiten, die mit einer 5-6 cm hohen Schicht aus Vaselin und Paraffin bedeckt in einen auf 110° geheizten Apparat, aus dem die Luft eine Stunde lang durch einen Dampfstrom abgesaugt wird, gestellt werden. Die in der Flüssigkeit enthaltene Luft wird dabei ebenfalls aus dieser abgesaugt und passirt die Fettdecke. Während des Abkühlens wird der Apparat mit einem Kohlensäuregasometer verbunden. Auf diese Weise wird die Flüssigkeit völlig von Sauerstoff befreit und bleibt unter dem Schutze der Fettdecke dauernd frei davon. In solcher Flüssigkeit wächst der Urobacillus Duclauxii nicht, wohl aber wenn dieselbe ein Volumpromille Sauerstoff enthält. Letzteren setzt Verf. in bestimmter Menge in sterilisirtem Wasser gelöst zu, indem er nach Bunsen und Schützenberger annahm, dass solches mit Luft geschütteltes Wasser 28-30 ccm Sauerstoff im Liter enthält. Zur Umwandlung von 1 g Harnstoff verlangt Urobacillus Duclauxii bei 30° 0,15 mg Sauerstoff. Die Lebensfähigkeit des genannten Bacillus ist von der Natur des Mediums, in dem er aufbewahrt wird, abhängig; er ist besonders empfindlich gegen kohlensaures Ammonium und stirbt daher in Flüssigkeiten, die viel (40-100 g im Liter) Harnstoff enthalten, in einigen Tagen ab, in solchen, die wenig Harnstoff enthalten, ist er nach Monaten noch lebendig. U. Pasteurii ist viel resistenter gegen kohlensaures Ammon aber im Allgemeinen wachsen wegen dieser Wirkung des kohlensauren Ammons die Harnstoffgährungserreger besser auf harnstofffreiem Substrat und kräftigen sich auf solchem wieder. Vielleicht verhalten sich pathogene Formen ähnlich und wachsen am üppigsten auf Substrat, wo man sie gar nicht vermuthet, ausserhalb der Gewebe. Die vegetativen Zellen des U. Duclauxii ertragen 55°

kaum noch, die Sporen (germes?) sterben, wenn sie 2 Stunden auf 95° gehalten werden.

Urobacillus Freudenreichii ist morphologisch dem U. Pasteurii äusserst ähnlich, aber physiologisch sehr von ihm verschieden da er eine zehn Mal schwächere Harnstoffgährung ausübt und nur 0,3 g Harnstoff per Stunde hydratisirt, auch nur 45 g Harnstoff im Liter umsetzt. Diese Form ist in Luft und Quellwasser selten, häufig im Strassenboden, Abwässern etc. Um sie zu erhalten, erhitzt man das Material in Wasser 5-6 Stunden auf 65-70°, bringt es dann auf Gelatine, die 20°/₀₀ Gelatine enthält und verwirft von den sich mit Krystallen umgebenden Colonien die, welche in mit 0,5°/₀₀ schwefelsaurem Kupfer versetztem Harn Harnstoffgährung erregen. Die Bakterien der übrigbleibenden Colonien reinigt man dann durch successive Gelatinekulturen. Die Schwäche des U. Freudenreichii in Bezug auf Harnstoffumsetzung zeigt sich auch darin, dass 1 g Zellen dieser Form nur 317 g Harnstoff umwandeln. Auch diese Form bildet, wie die vorhergehenden, in gewöhnlicher Bouillon Urase. Urobacillus Freudenreichii bildet 1-1,3 μ breite, verschieden lange Stäbchen mit abgerundeten Enden, die äusserst beweglich sind und ebenso wie die anderen Formen unbeweglich werden, wenn das kohlensaure Ammon sich anhäuft. Auf Gelatine etc. bildet er wirre Fäden, die beiden bisher genannten Formen kurze Stäbchen. Auf solchem Substrat bildet U. Freudenreichii auch kugelrunde, glänzende, resistente Sporen, die beim Keimen quellen, elliptisch werden und sich zum Stäbchen strecken. In dem Bodensatz von Kulturen, deren Harnstoff schon völlig umgewandelt ist, sieht man diesen Bacillus abweichende Formen, sehr dicke Mikrokokken oder kurze, dicke Stäbchen bilden. In Gelatine und neutraler Peptonbouillon wächst U. Freudenreichii gut, erstere wird von ihm verflüssigt; durch diese Eigenschaften unterscheidet er sich von den bisher besprochenen beiden Formen. In Bouillon oder Gelatine bleibt U. Freudenreichii Jahre lang lebendig, in solchen Substraten die kohlensaures Ammonium enthalten kürzere Zeit. Die Sporen dieser Form sterben in feuchtem Zustande bei zweistündiger Einwirkung von 95°, während eine Temperatur von 90° sie gar nicht verändert.

Miquel (248) spricht hier nochmals kurz über die im vorstehenden Referat erwähnte Urase. Dieselbe wirkt bei 50-55° am schnellsten, zersetzt sich aber bei 50° in 3-4 Stunden, bei 75° in einigen Minuten, bei 80° in einigen Sekunden, hält sich aber bei 0° in Bouillon einige Wochen.

VII. Leuchtende Bakterien.

249. Beijerinck, M. W., Over lichtvoedsel en plastisch voedsel van Lichtbacterien (Versl. en Meded. der k. Akad. v. Wetenschappen, Afd. Natuurk. 2de Reeks Deel VII, 64 pp. Amsterdam 1890). — (S. 180)

250. Dubois, R., Nouvelles recherches sur la production de la lumière par les animaux et les végétaux (Compt. rend. de l'acad. Paris t. CXI, 1890, p. 363). — (S. 182)

251. Gadeau de Kerville, H., Les végétaux et les animaux lumineux. 1 vol. in 16 avec 50 figg. [Bibl. scient. contemporaine]. Paris 1890, Baillière et fils. — (S. 182)

Beijerinck (249) bringt die 6 von ihm unterschiedenen Arten von Leuchtbakterien in drei Gruppen. Photobacterium Pflügeri Ludw. und P. phosphorescens stammen von leuchtenden Seefischen, verflüssigen Gelatine nicht, P. Pflügeri leuchtet von allen am stärksten. Beide vergähren Laevulose und Glykose zu gleichen Mengen Kohlensäure und Wasserstoff, Maltose assimilirt aber nur P. phosphorescens. P. Fischeri und balticum (von Fischer) stammen aus der Ostsee, ersterer verflüssigt stark, letzterer langsam, doch konnte Verf. diese Eigenschaften beider Formen in längerer Kultur umwandeln. P. Fischeri wächst schon bei $^1/_2{}^0/_0$ Rohrzucker, wovon Spuren sein Leuchten erhöhen, nicht mehr, P. balticum ist sehr unempfindlich gegen grössere Mengen dieses Körpers. Die genannten vier Arten kultivirt man in Fischabkochung mit Meerwasser, $1^0/_0$ Glycerin, $^1/_2{}^0/_0$ Asparagin, $8^0/_0$ Gelatine. P. indicum aus dem westindischen Meer und P. luminosum aus der Nordsee verflüssigen schnell. Ersteres leuchtet nächst P. phosphorescens am stärksten; die Leuchtkraft seiner Colonien konnte Verf. durch fortgesetzte Auswahl verstärken. Die Leuchtbakterien sind sämmtlich empfindlich gegen geringe Zuckermengen in der Nährlösung. $1^0/_0$ Glykose hebt schon das Leuchtvermögen von P. luminosum auf, P. indicum ist weniger empfindlich. Die Nährstoffe der Leuchtbakterien untersucht Verf. indem er Nährgelatine mit einem Nährstoff im Ueber-

schuss mit Leuchtbakterien mischt und nach Aufhören des Leuchtens auf diese Gelatineplatte gebrachte Stoffe darauf untersucht, ob in ihrem Diffusionsfeld die Leuchtbakterien sich vermehren oder leuchten; letzteres kann schon nach Sekunden eintreten. Ein Leuchtnährstoff muss zugleich auch Vermehrung der Leuchtbakterien verursachen, aber nicht umgekehrt, so dass hier Lichtentwicklung weder mit Athmung noch mit Wachsthum in nothwendigem Zusammenhang steht. Die Vergährung von Glykose, Laevulose, Maltose, Galaktose durch P. phosphorescens und Pflügeri ist an Gegenwart von Pepton und Sauerstoff gebunden; bei Sauerstoffabwesenheit hört auch das Leuchten aber nicht das Wachsthum auf. Uebermass von freiem Sauerstoff z. B. bei Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd, woraus die Bakterien Sauerstoff frei machen, hindert die Gährung. Die Leuchtbakterien reduciren auch, wie durch Zusatz von Indigblau und Salpeter zu den Kulturen zu erkennen ist.

Für Herstellung der erwähnten Platten zieht Verf. sich P. phosphorescens in Fischabkochung mit Meerwasser, $1^0/_0$ Pepton und $2^0/_0$ Glycerin in weichen, gut zu vertheilenden Massen, während gleichzeitiger Asparaginzusatz eine anfänglich feste Bakterienmasse ergiebt.

P. phosphorescens, Pflügeri, balticum und Fischeri wachsen und leuchten nur bei Gegenwart von Pepton und einer Kohlenstoffquelle, P. luminosum und indicum verlangen nur Pepton und eiweissartige Stoffe, weshalb Verf. erstere Peptonkohlenstoffbakterien, letztere Peptonbakterien nennen will. Fügt man diesen noch die Amid- und Ammoniakbakterien zu, so erhält man eine auf die Stickstoffernährung gegründete physiologische Eintheilung aller Bakterien. Das Leuchten von P. phosphorescens bewirken Glykose, Galaktose, Laevulose, Glycerin, Milchzucker, Calcium-, Natrium-, Kaliumlaktat, Bernsteinsäure, bernsteinsaurer Kalk, Apfelsäure, Natriummalat, Rechts-, Links- und inaktives Ammoniumbimalat, Magnesiumbimalat, Glycerinsäure, glycerinsaurer Kalk, Asparaginsäure, Asparagin, Alanin, Glykosamin. Bezüglich der wirkungslosen und der verdunkelnd wirkenden Stoffe sei auf das Original verwiesen. Alle assimilirbaren Stoffe können durch Säurebildung verdunkelnd wirken.

Das Leuchten der Bakterien wird nach Verf. durch eine Lebensfunktion der Bakterienzelle und nicht durch Abscheidung eines leuchtenden Körpers, wie Andere wollen, verursacht. Die Lichtentwicklung hängt mit dem Uebergang der Peptone des Nährbodens in lebenden organischen Stoff zusammen. Die Angaben verschiedener Forscher, wonach das Leuchten von Meerthieren auf Symbiose mit Leuchtbakterien beruhe, zweifelt Verf. auf Grund eigener Versuche an. Der Verf. hat schon früher sein Verfahren zur Prüfung auf Fermente mittelst Leuchtbakterien angegeben (vergl. Wijsman, Ref. p. 155). Er bringt da auf nicht mehr leuchtende Leuchtbakterienplatten, welche z. B. Stärke

enthalten, Diastase verschiedener Herkunft aus Pankreas, von Amylobakter, aus höheren Pflanzen, Ptyalin etc. und findet immer P. phosphorescens aufleuchten, P. Pflügeri nicht, woraus er folgert, dass die geprüften Diastasesorten keine Glykose erzeugen. (Nach Centralbl. f. Bakteriol. Bd. VIII, 1890.)

Dubois (250). Wenn man Salzwasser, welches durch Schleim von Pholas dactylus oder durch Bakterien leuchtend gemacht worden war, in einem U-rohr electrolysirt, so verschwindet das Leuchten an beiden Polen und bleibt in dem den negativen Pol enthaltenden Schenkel nur an der Flüssigkeitsoberfläche, im anderen in einem scheibenförmigen Bezirk erhalten, welcher gerade an der Stelle liegt, bis zu welcher zugesetztes Lakmus bei der Elektrolyse sich entfärbt. Das Aufhören des Leuchtens wird demnach am negativen Pol durch Auftreten von reducirendem und Sauerstoff vertreibendem Wasserstoff, am positiven durch Säurebildung bedingt und dementsprechend durch Zusatz von Ammoniak auf der einen, durch Einblasen von Luft auf der anderen Seite wieder in Gang gebracht, was nicht der Fall ist, wenn das Leuchten durch starke Säure oder durch Hitze sistirt wurde. Demnach ist das Leuchten keine Folge einfacher Oxydation, sondern ein Athmungsprozess.

Gadeau de Kerville (251) giebt hier eine Zusammenstellung des über leuchtende Thiere und Pflanzen, auch Bakterien, Bekannten und der verschiedenen Ansichten über das Zustandekommen dieses Leuchtens.

Autoren-Register.

(Ein Stern hinter der Seitenzahl bedeutet, dass die betreffende Arbeit dem Herausgeber unzugänglich war und daher nur der Titel derselben aufgeführt wurde.)

Sach-Register.

Fürstlich priv. Hofbuchdruckerei (F. Mitzlaff), Rudolstadt.



